

Материалы 2-й Московской международной конференции
Москва, 26-28 сентября 2008

ИММУНОФИЗИОЛОГИЯ

ЕСТЕСТВЕННЫЙ АУТОИММУНТЕТ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Под редакцией А.Б.Полетаева и А.Н.Данилова

**Издание Медицинского исследовательского центра «Иммункулус»
Москва 2008**

www.immunodiagnostika.ru

ОРГАНИЗАТОРЫ

**Медицинский исследовательский центр «Иммункулус»
Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова
НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН
НИИ системной наномедицины и биотехнологии
Холдинг «Материя Медика»**

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели

Профессор А.Б.Полетаев
Professor Y.Shoenfeld

Члены Оргкомитета:

Д-р Н.Н.Галева
О.В.Крылов
Professor A.L.Notkins
В.В.Романцов
Академик РАМН К.В.Судаков
Профессор С.В.Сучков
Профессор В.В.Шерстнев
Профессор О.И.Эпштейн

СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

**Медицинский исследовательский центр «Иммункулус»
Холдинг «Материя Медика»**

American Autoimmune Related Diseases Association (AARDA)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Приветствие (М.А.Пальцев).....	8
Предисловие (А.Б.Полетаев, К.В.Судаков, Y.Shoenfeld)	9
Введение. Врожденный иммунитет и аутоиммунитет (Y.Shoenfeld).....	10
Антонов А. К., Симонова А. В., Антонов Ю. К., Гречко А. Т., Цимбал М. В., Белоусов А. В. Применение иммунотерапии в комплексном лечении онкологических больных в поздней стадии заболевания	12
Арапов Н.А., Овчарова Н.А., Трефильева Н.Ф., Реготун Е.В., Троицкий А.А. Хронический панкреатит как фактор риска развития инсулинзависимого сахарного диабета.	12
Арапов Н.А., Юдин В.А., Виноградов И.Ю., Потапов И.В., Полетаев А.Б. Актуальные аспекты реабилитации онкологических больных четвертой клинической группы.	14
Арион В.Я., Короткова М.Н., Москвина С.Н., Зимина И.В., Быстрова О.В. В тактивине присутствуют молекулы, входящие в состав микроокружения Т-лимфоцитов в тимусе	18
Ахидова Е.В., Волкова Т.Д., Короев Д.О., Кармакова Т.А.*, Якубовская Р.И.*, Филатова М.П., Вольпина О.М. Выявление опухолеассоциированного белка сурвивина с помощью антител к синтетическим пептидам	19
Ахмедилова К.А., Воробьев И.И., Шогенов З.С., Пономаренко Н.А., Кекенадзе Н.Н., Габибов А.Г., Сучков С.В. Антитела-абзимы при аутоиммунном миокардите	20
Бадюк В.М., Якименко О.Г., Раковская Н.И., Никитчина Т.В., Билько Н.М. Иммунореактивность сыворотки у беременных женщин при хромосомной патологии плода	22
Баркова Е.Л., Косталевская А.В., Хитров А.Н., Перламутров Ю.Н., Matsuura E., Сучков С.В. Патогенетическая и клиническая значимость наследственной и адаптивной ветвей иммунитета у больных с очаговыми и диссеминированными формами аутоиммунной патологии кожи	23
Беляев Д.Л., Долгина Е.Н., Огородова Л.М., Пенкина Н.И., Бабаянц А.А., Фролова И.С., Хатунцева Н.В. Местная и системная иммунотерапия атопического дерматита при смешанных микробно-вирусных заболеваниях	25
С.А. Бобровник Полиреактивные иммуноглобулины: их свойства и возможные функции	28
Васильева З.В., Тягунова А.В., Дрожжева В.В., Конькова Т.А., Симонова А.В. Содержание некоторых естественных аутоантител у матерей с беременностью, осложненной гестозом и их новорожденных	32
Виноградова Ю.Е., Леках И.В., Варламова Е.Ю., Шинкаркина А.П., Замулаева И.А., Селиванова Е. И., Саенко А.С. Показатели аутоиммунитета у больных с Т- и В-клеточными лимфатическими опухолями.....	34
Виноградова Ю.Е., Замулаева И.А., Селиванова Е.И., Дейгин В.И., Саенко А.С. Использование тимодепрессина у больных с иммунными цитопениями.....	35
Гайнутдинов Х.Л. Эффекты антител к Са-связывающему белку S100 на мембранные структуры командных и мотонейронов виноградной улитки	37
Грудень М.А. Шерстнев В.В. Аутоантитела к факторам-регуляторам выживаемости и гибели эндотелиальных, нервных и глиальных клеток как биомаркеры и предикторы энцефалопатии	38
Гусев Е.И., Лусникова И.В., Гехт А.Б. Сывороточная активность нейротропных аутоантител у больных с фокальной эпилепсией	40
Diamond B., Huerta P. T., Kowal C., Volpe B. Новые представления о волчанке с нейропсихиатрическими проявлениями	41
James L. Конформационное многообразие как новый механизм перекрестной реактивности аутоантите	42

Зайчик А. М., Чурилов Л.П. Естественный аутоиммунитет как система синхронизации генетически детерминированных процессов	46
Замалеева Р.С, Черепанова Н.А., Букатина С.В Особенности изменения уровней регуляторных аутоантител у беременных на доклинической стадии гестоза	58
Исаева М.А., Богатырева З.И., Пономаренко Н.А., Байсугуров М.А, Габибов А.Г., Анциферов М.Б., Т. Elbeik, Сучков С.В. Протеолитические аутоантитела при аутоиммунном тиреоидите	60
Камынина А.В., Вольпина О.М.,Медвинская Н.И.,Александрова И.Ю., Шалгунов В.С.,Волкова Т.Д.,Короев Д.О.,Самохин А.Н.,Валеева О.А.,Бобкова Н.В. Новые подходы в иммунотерапии болезни Альцгеймера	61
Кантемитрова М.Г., Луценко Я.В. Содержание кардиоспецифических аутоантител в сыворотке крови детей с нарушениями ритма и проводимости	63
Konstantinidis Th, Tsigalou Ch, Galanopoulos N, Gioka T, Antoniou D, Tziola A, Kamprouromiti G. Продукция аутоантител у больных страдающих Ревматоидным артритом при применении блокаторов фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-а)	64
Кочакова Л.Б.,Погребная С.Е.,Кошкина И.А. Внедрение метода ЭЛИ-П-Комплекс для предгравидарной подготовки и прогноза рождения здорового ребенка	65
Кошелева И.В. Влияние кислородно-озоновой терапии на состояние аутоиммунитета у больных с дерматозами.....	66
Кошель Е.Н., Подзолкова Н.М. Папилломавирусная инфекция и нарушения гестационного процесса	66
Красильщикова М. С., Дейгин В. И., Зацепина О.В. Циклоспорин А предотвращает образование аутоантител к фибрилларину у мышей	69
Кудаева И. В., Маснабиева Л.Б. Уровни нейромедиаторов у рабочих, подвергающихся воздействию металлической ртути.....	69
Кузьменко Л.Г., Арион В.Я., Зимина И.В., Быстрова О.В., Москвина С.Н., Киселева Н.М., Сысоева О.Б., Луканидина Т.А.,Исмаиль Насер Наваль Хасан, Кротова С.Б. Показатели уровня сывороточной тимической активности пуповинной крови новорожденных детей	71
Кузьменко Л.Г., Эсмурзиева З.И., Абросимова А.А., Игнатьева О.Н., Киселева Н.М., Газарян Ж.Р. Естественные аутоантитела в пуповинной крови здоровых новорожденных	73
Куликов Н.О., Пеньковская Е.К. Нейроиммунные аспекты диагностики и лечения инсульта	74
Плюсы и минусы материнского иммунного импринтинга	
Лемке Г., Танаса Р. Ю., Трад А., Ланге Г. Плюсы и минусы материнского иммунного импринтинга	Ошибка! Закладка не определена.
Лысенко А.А, Дементьева Д.В., Косинский Ю.А., Ефремов Р.Г., Некрасов А.Н., Свирищевская Е.В. Механизмы нарушения адгезии между кератиноцитами кожи при пузырчатке.....	82
Г.Т.Лютфалиева., Л.К.Добродеева Участие аутоантител в компенсаторно-приспособительных процессах организма человека в условиях севера	84
Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Прогностическое значение естественных аутоантител к почечным антигенам у детей	86
Манухин И.Б., Геворкян М.А., Григорова Л.В., Скобенникова М.Д. Естественный аутоиммунитет и прогноз фертильности у женщин с наружным генитальным эндометриозом	87
Мещеряков А.Ф. Влияние Интерлейкина-1 β и Интерлейкина-2 на механизмы зависимого поведения	88
Моисеева Е. В., Нефедова Н. В., Калинина Т. С., Литвин А.А., Стовбун С.В., Сергиенко В.И. Мыши CBRB как модель импетиги и болезни Паркинсона: предполагаемая аутоиммунная природа и влияние пробиотиков	89

Москалец О.В., Машков А.Е., Слесарев В.В. Феномен аутореактивности при гематогенном остеомиелите	90
Москалец О.В., Русанова Е.В., Щербина В.И. Антинейтрофильные антитела у детей с хроническими запорами.....	90
Несвижский Ю.В. Противоинфекционный иммунитет и патогенез аутоиммунного синдрома.....	91
Ноткинс А. Л. Аутоантитела-предсказатели и аутоантигеном человека Ошибка! Закладка не определена.	
Обухова П. С., Корчагина Е.Ю., Бовин Н. В. Сыворотки здоровых доноров содержат аутоантитела, к антигену группы крови H(0) – дисахариду Fuc α 1-2Ga	97
Palinski W., Tomoya Yamashita, Eberle C., Napoli C. Направленное иммунное программирование в раннем онтогенезе и предотвращение формирования сердечно-сосудистой патологии	97
Пальцев М.А., Сучков С.В. Синдром постинфекционного вторичного иммунодефицита (СПИВИД) и постинфекционный аутоиммунный синдром (ПИФАС) в клинике внутренних болезней: этиопатогенез и стратегия иммуногенодиагностики	102
Пальцев М.А., Хитров А.Н., Габибов А.Г., Сучков С.В. «Функциональность» антител сквозь призму врача-клинициста	104
Полетаев А.Б. Парадоксальная иммунология и новые пути к профилактической медицине.....	106
Ruiz-Argüelles A. Физиологические и патогенные следствия внутриклеточного проникновения аутоантител in vivo	111
Санаев А.О., И.А. Качков, Л.И. Винницкий, А.Н. Коновалов, С.В. Сучков Современные аспекты применения полиоксидония при лечении интракраниальных инфекционно-воспалительных процессов на примере абсцессов головного мозга	117
Санаев, А.О. Качков И.А., Винницкий Л.И., Коновалов А.Н., Сучков С.В. Иммуномониторинг и иммунореабилитация в практике интракраниальных инфекционно-воспалительных процессов (ИКИВП).....	118
Симонова А.В., Газарян Ж.Р. Оценка новых звеньев иммунопатогенеза при хронических инфекционных заболеваниях. Новые подходы к лечению	118
Смирнова А.Г., Колбай И.С., Оразова А.Т., Нургалиева Л.И., Нурлыбаева С.Г. Содержание иммунных факторов в крови у беременных женщин в зависимости от условий проживания	119
Собуров К. А., Тюмонбаева Н.Б., Карымшакова Э.А. Иммунный статус женщин-табаководов с гинекологическими заболеваниями и возможности его иммуномодуляции тактивинном	120
Сотников С.В., Умрюхин П.Е., В.Л. Степанюк, Умрюхин А.Е. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в крови животных с разной поведенческой активностью после иммобилизационного стресса	122
Уникальное структурное состояние опухолевого аутоантигена B23/нуклеофозмина	
Стратиенко Н.В., Потапенко Н.А., Владимирова Н.М. Уникальное структурное состояние опухолевого аутоантигена B23/нуклеофозмина.....	123
Судаков К.В. Иммунофизиология функциональных систем поведения	124
Тарасов С.А., Машкина М.В., Акиндинова Ю.О., Дугина Ю.Л., Сергеева С.А., Эпштейн О.И., Р.Н. van der Meide, Y.J.M. van den Hout Разработка ИФА для количественного определения естественных аутоантител – потенциальной эндогенной мишени влияния сверхмалых доз антител	125
Нейроиммунологические аспекты эпилептических приступов	
Фейгина А.А., Лусникова И.В., Алферова В.В., Гехт А.Б. Нейроиммунологические аспекты эпилептических приступов.....	127
Хамаганова Е.Г. KIR-гены естественных киллеров и их HLA-лиганды	128

Черепяхина, Н.Е., Шубенина А.Ю., Matsuura E., Санаев А.О., Сучков С.В. Клинико-иммунологический синдром как основа для разработки современного протокола иммуногеномониторинга при интракраниальном инфекционно-воспалительном процессе.....	130
Черепяхина Н.Е., Шубенина А.Ю., Elbeik E., Шабанов Д.В., Ахмедилова К.А., Третьяк Е.Б., Сучков С.В. Хронический инфекционный процесс и ассоциированная (синдромальная) иммунопатология: особенности взаимоотношений	131
Черепяхина Н.Е., Elbeik E., Шабанов Д.В., Шубенина А.Ю., Ахмедилова К.А., Третьяк Е.Б., Сучков С.В. Роль и место патологии адаптивной ветви иммунитета в хронизации инфекционного заболевания и формировании ассоциированной с заболеванием формы иммунопатологии	133
Шалгунов В.С., Стратиненко Н.В., Волкова Т.Д., Филатова М.П., Камынина А.В., Ким Я.С., Владимирова Н.М., Короев Д.О., Вольпина О.М. Получение антител к нуклеофозмину (NPM) и химерному белку NPM-ALK с помощью синтетических пептидов	135
Шаркова В.А., Вавренчук В.В., Забелина Н.Р. Влияние вида и давности наркотической зависимости на изменение уровня ряда аутоантител и цитокинов.....	136
Шевченко М.А., Шеховцова Е.Л., Сапожников А.М. Сенсibilизация к собственному белку БТШ70: исследование влияния на аллергическую астму, вызванную грибом <i>A. fumigatus</i> с использованием мышинной модели	137
Шмидт, Т.Е. Гуляева Н.В., Введенская О.Ю., Калаева Н., Габибов А.Г.,	139
Яхно Н.Н., Пальцев М.А., Сучков С.В. Перспективы использования биоинженерных фармакоконструкций в лечении больных рассеянным склерозом.....	139
Шоенфельд Е. Аутоантитела: индуцируются ли они аутоантигенами или идиотипами?	142
Эсмурзиева З.И., Кузьменко Л.Г., Абросимова А.А. Референтные значения естественных аутоантител в пуповинной крови здоровых новорожденных, рожденных от здоровых матерей.....	145
Эюбова А.А., Панахова Т.Т., Султанова Н.Г. Применение ронколейкина в комплексном лечении бронхиальной астмы у детей	147

Уважаемые коллеги!

Наша конференция не случайно приурочена к 26 сентября – дню рождения великого физиолога И.П.Павлова, а в ее названии не случайно имеется термин «Иммунофизиология». Действительно, достижения и находки последних 10-15 лет позволяют все более обоснованно смещать акцент в сторону физиологической составляющей иммунологии. Нелишне напомнить, что впервые вопрос о физиологической роли иммунной системы поставил И.И.Мечников. В своем докладе на Всемирном медицинском конгрессе (Берлин, 1896) Мечников заявил, что относиться к Иммунной системе, как к жандарму, стоящему на страже организма от микробов принципиально неверно, что значение иммунной системы существенно шире, а «жандармские» функции – это лишь одно из частных проявлений ее общебиологического предназначения. При этом Мечников указывал, что иммунную систему в первую очередь следует рассматривать как инструмент поддержания общей гармонии организма.

Вместо понятия «гармония», сегодня мы больше склонны употреблять термин «гомеостаз», но суть дела от этого не меняется. Мы признаем, что Иммунная система, наряду с нервной и эндокринной – это основной инструмент динамической адаптивной регуляции функций нашего тела в условиях нормы и патологии. Иными словами, основная сфера деятельности иммунной системы – это скорее физиология и общая патология, нежели микробиология. Признание этого позволяет по-новому подойти к изучению иммунных механизмов регуляции эмбриогенеза и репарации, контроля клеточной дифференцировки и малигнизации, взаимной настройке множества внутриклеточных, межклеточных, органных и общеорганизменных физиологических процессов.

Безусловно, переосмысление роли иммунной системы в ракурсе иммунофизиологии, должно повлечь за собой множество следствий, важных как для теории, так и для практической медицины. И, конечно же, все это потребует большой и очень слаженной совместной работы иммунологов, физиологов, биохимиков, молекулярных генетиков, математиков и др. специалистов. Мы прекрасно понимаем, что совместная работа дается нелегко. Ведь ученые –

это люди, со всеми присущими им недостатками, а Наука по природе своей – соревновательна. Однако давайте постараемся почаще напоминать себе о том, что наука – это все-таки не Большой Спорт, а ее суть и цели отнюдь не сводятся к конкуренции амбициозных индивидов. Тем более что мы имеем наглядный и яркий пример того, насколько результативной может быть по-настоящему совместная работа.

Можно долго спорить о практической значимости проекта «Геном человека» – по этому поводу имеются диаметрально противоположные мнения. Однако как бы не относиться к результатам проекта, бесспорно одно: без добровольной, превосходно организованной кооперации сотен исследователей из десятков стран картировать геном в столь сжатые сроки было бы невозможно. Давайте же вместе попытаемся более разумно подойти к затратам нашего времени, сил и финансовых ресурсов!

Очень надеюсь, что наша конференция послужит этой благой цели. Чем более тесным будет сотрудничество ученых разных стран – тем более результативной будет, в конечном итоге, наша общая работа. Слава Богу, «железного занавеса» больше нет, Интернет пришел в каждый дом, а остальное зависит только от нашего обобщенного желания и энергии.

От имени Российской Академии Наук и Российской Академии Медицинских Наук я рад приветствовать российских и зарубежных участников 2-й Московской конференции по Естественному аутоиммунитету. Хочу искренне пожелать всем ее участникам успешной неформальной работы, интересных и жарких дискуссий и лучшего узнавания друг друга.

М.А.Пальцев
Ректор ММА им. И.М.Сеченова
Академик РАН и РАМН

ПРЕДИСЛОВИЕ

Сегодня многие исследователи считают, что молекулярная биология является важнейшим разделом биологической науки. Оправдано ли это? Можем ли мы рассматривать молекулярную биологию как основу всей биологии XXI века?

Основы современной молекулярной биологии были заложены блестящими научными работами середины XX века. Теми исследованиями 50-60-х годов прошлого века, которые привели к эпохальным открытиям в химии и биологии нуклеиновых кислот, структуры и функций белковых молекул, в изучении принципов генетического кодирования, транскрипции и трансляции генетической информации. Поразительные успехи молекулярной биологии, включая молекулярную иммунологию и биотехнологию, стали возможными за счет использования достижений других фундаментальных наук – физики и химии, математики и кибернетики. Дополнительное ускорение развития молекулярной биологии в последние 20 лет придали разработки высокотехнологических молекулярно-биологических методов, а также достижения информатики. Однако, несмотря на множество блестящих достижений, ситуация в молекулярной биологии сегодня, очень напоминает положение, сложившееся в физике на рубеже XIX и XX веков – существующие теории оказываются все менее пригодны для объяснения все большего числа экспериментально полученных фактов. Почему это происходит?

Современные подходы в изучении сложных и многообразных биологических явлений отличаются явным избытком аналитической методологии, в ущерб целостным (холистским) системным представлениям. В этом кроется, возможно, главная причина своеобразного противоречия, при котором наряду с очевидными успехами в изучении изолированных биохимических и биофизических процессов, мы очень слабо и отрывочно понимаем суть и принципы реализации большинства важнейших биологических феноменов. Тайной за семью печатями остается ход эмбриогенеза (мы можем лишь приблизительно описать, но не объяснить каким образом оплодотворенная яйцеклетка дает начало человеческому организму). Не находит рационального объяснения удивительная взаимная согласованность множества одновременно протекающих в организме разных событий молекулярного, клеточного и более высоких уровней организации, обуславливающих ЖИЗНЬ как биологический феномен. Недостаточно понятно, каким образом невообразимо сложные и хрупкие биологические системы оказываются одновременно удивительно надежными в постоянно меняющейся, часто враждебной среде. Далеки от понимания феномен смерти организма, отслужившего «положенный» срок. Исследователи плохо представляют, как работает мозг, как возникают эмоции, или каковы механизмы памяти и даже не могут определенно сказать, имеется ли причинная связь между биоэлектрической активностью центральных нейронов и мыслительной деятельностью.

Подобных вопросов, не имеющих сегодня ответов - великое множество. При этом современная наука неплохо осведомлена о молекулярных основах хранения генетической информации, о механизмах репликации, репарации и транскрипции, о процессинге первичных транскриптов и трансляции мРНК на рибосомах, в результате чего синтезируются упорядоченные последовательности аминокислотных остатков (белков) обладающих ферментной активностью, транспортными, рецепторными и иными специализированными функциями. Изучены принципы лиганд-рецепторных взаимодействий, позволяющих клеткам общаться между собой. В общем, мы представляем, каким образом внешние сигналы стимулируют или ингибируют синтезы и секрецию многих молекул, какие процессы лежат в основе энергетики клетки, как работают «ионные насосы» и происходит распространение нервного импульса по аксонам. Уже известно многое другое, касающееся ионов, молекул, клеточных мембран, структуры генома... И тем не менее, несмотря на все наши аналитические знания, наука (за редчайшим исключением) все еще бессильна перекинуть мостики между уровнем биохимии/биофизики и уровнем физиологии, и не находит ответов на большинство фундаментальных вопросов, имеющих общебиологическое и медицинское значение. Складывается впечатление, что столь

привычные сегодня редукционистские тенденции, принципиально не позволяют за деревьями увидеть леса. Становится очевидным, что требуются качественно иные ракурсы рассмотрения проблем жизнедеятельности, иные навыки подходов к изучению сложно-организованных систем, иная парадигма научного поиска.

Онтологические основы сегодняшнего положения достаточно понятны. Поразительные в свое время успехи клеточной теории Шлейдена-Шванна, развитой Вирховым и другими блестящими учеными, по настоящему результативные аналитические исследования статичных морфологических препаратов, дали мощный толчок всей современной биологии. Однако, Великая Гистологическая Революция, сменившаяся Эрой молекулярной биологии, незаметно перетекла в редукционистский Термидор. И сегодня, привычно отдавая все внимание аналитическому базису, фундаменту здания, мы по-прежнему не имеем возможности воспринять и оценить мудрость и красоту чертогов ЖИЗНИ. Вероятно, пришла пора признать, что такая методология почти исчерпала свой эвристический потенциал. Можно думать, что ожидаемая смена эпохи редукционизма новыми интегральными подходами, провозвестниками которых были Л. Берталланфи П.К.Анохин, Н.Винер, И Пригожин и другие исследователи, приведет к пересмотру многих, кажущихся незыблемыми фундаментальных положений и будет стимулировать возникновение и развитие качественно новых аспектов биологии, биотехнологии и медицины.

Наглядным примером медленного, трудного, но неуклонного прорастания ростков системного подхода сквозь плотный асфальт аналитико-редукционистской методологии, может служить трансформация взглядов на биологическую роль и место иммунных механизмов. Иммунология, бывшая еще недавно не более чем пасынком микробиологии, постепенно трансформируется в существенный и важный раздел общей физиологии - иммунофизиологию. Сегодня очевидно, что роль иммунитета далеко не ограничивается выполнением полицейских функций в отношении бактерий и вирусов, попадающих в организм. Иммунные механизмы, наряду с нервной и эндокринной системами – являются компонентами функциональных систем, определяющих динамический гомеостаз организма в меняющихся условиях среды. Следует согласиться с гениальной догадкой И.И.Мечникова, более сто лет назад предположившего, что основная функция иммунной системы – системный контроль антигенного (т.е. молекулярного) гомеостаза организма. Признание этого базисного положения позволяет по-новому оценить роль иммунной системы в регуляции эмбрионального развития и заживления ран, клеточной дифференцировки и малигнизации, в настройке и согласовании множества межклеточных, тканевых, органных и общеорганизменных физиологических процессов в условиях нормы и патологии.

Понимание того, что биологическая значимость иммунной системы определяется не столько ее способностью к деструкции «Чужого», сколько к распознаванию, оценке и коррекции «Своего», позволяет отказаться от стереотипных воззрений на аутоиммунитет, еще недавно рассматривавшийся только с точки зрения патологии.

Организационный комитет 2-й Московской международной конференции «ИММУНОФИЗИОЛОГИЯ: ЕСТЕСТВЕННЫЙ АУТОИММУНИТЕТ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ» приветствует участников конференции и желает им успехов. Мы надеемся, что эта конференция станет значительным событием, важным для развития новых идей и внедрения в практику достижений системной иммунофизиологии.

А.Б.Полетаев,

К.В.Судаков

Y.Shoenfeld

ВВЕДЕНИЕ. ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ И АУТОИММУНИТЕТ

Аутоиммунные болезни являются мультифакторными, а их развитие зависит от множества переменных (генетических, гормональных, иммунных и факторов среды), которые объединяются понятием «Мозаика аутоиммунности». В последнее десятилетие были идентифицированы многие гены, с которыми оказались связаны специфические аутоиммунные заболевания. В тоже время уровень «генетической разочарованности» также оказался достаточно высоким. В первую очередь потому, что лишь в единичных случаях погрешность в работе только одного гена оказывалась достаточной для развития болезни. Более того, чрезвычайно широким оказался спектр воздействий среды, способных индуцировать развитие патологической аутоиммунореактивности. Начиная от инфекций и фармакологических препаратов, и заканчивая курением и даже проживанием поблизости от аэропорта.

Ситуация дополнительно усложняется новыми данными по врожденному иммунитету, согласно которым ранние контакты иммунной системы с антигенами и активация ими врожденных звеньев иммунитета могут быть весьма важными для последующего развития аутоиммунных болезней. Роль Toll-like рецепторов является только одним из примеров этого. Понятно, что изучение этих вопросов может быть важной и с терапевтической точки зрения.

На нашей конференции мы будем затрагивать вопросы патологического аутоиммунитета (например, нейропсихиатрические аспекты системной красной волчанки и вовлеченность обоняния в эти аспекты). Однако мы будем рассматривать и вопросы естественного (физиологического) аутоиммунитета, а также обсуждать каким образом врожденные звенья иммунитета оказываются вовлеченными в активацию продукции антибактериальных и противовирусных антител. Необходимо отметить, что мы будем рассматривать и вопросы «иммунного импринтинга», посредством которого иммунная система матери оказывает модулирующее влияние на иммунную систему потомства.

Надеемся, что наша конференция будет интересным и важным научным событием.

Yehuda Shoenfeld, MD, FRCP

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ПОЗДНЕЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

¹⁾А. К. Антонов, ²⁾А. В. Симонова, ³⁾Ю. К. Антонов, ⁴⁾А. Т. Гречко, ¹⁾М. В. Цимбал, ¹⁾А. В. Белоусов

¹⁾ГКБ №81, Москва; ²⁾Медицинский центр «Иммунитета и здоровья», Москва;

³⁾Поликлиника №3, Москва; ⁴⁾Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Под наблюдением находилось 75 больных (50 М; 25 Ж) с разными видами опухолей 4 стадии после комплексного лечения (операции, химиотерапия, лучевая и гормональная терапии). С помощью твердофазного ИФА и использования тест-наборов ЭЛИ-Тест (МИЦ «Иммункулус», Москва) всем проводили оценку состояния естественного аутоиммунитета по уровню сывороточных антител (АТ) к ДНК, γ -интерферону, β 2-гликопротеину, коллагену, миозину. По содержанию ауто-АТ к антигенам основных органов и тканей оценивали наличие и выраженность метастатического поражения (печень, легкие, ЖКТ, мозг), а также повреждение различных систем организма (сердечно-сосудистой системы, нервной системы, щитовидной и поджелудочной железы, выделительной системы). По состоянию аутоиммунитета обследованные пациенты были разделены на две группы. Первую составили больные с аномальной активацией иммунитета (уровень 46 ауто-АТ, характеризующих состояние 11 органов и систем был повышен). Эта группа пациентов была прогностически более благоприятна. Вторая группа больных характеризовалась супрессией аутоиммунитета (уровень ауто-АТ был аномально снижен). У пациентов этой группе течение заболевания было менее благоприятным, имелись признаки иммунодефицитного состояния, и сопутствующих инфекционных процессов. Таких пациентов в поздней стадии онкозаболевания было около 80%. Пациентам с иммуносупрессией для улучшения качества жизни (оценивали по шкале Карновского), назначали иммуноглобулины для внутривенных введений, курс быстродействующих адаптогенов «Витавис», а также гепатопротекторные и энтеропротекторные препараты отечественного производства «Гепатосан» и «Энтеросан». Результаты наблюдений позволяют заключить следующее:

1. Определением уровня аутоантител к ряду органов (печень, легкие, поджелудочная железа, щитовидная железа, желудок, кишечник) позволяет на ранней стадии выявить наличие метастазов и осуществлять контроль над имеющимися метастатическими поражениями органов.

2. Использование комплекса быстродействующих адаптогенов «Витавис» у онкологических пациентов в поздней стадии заболевания позволяет значительно улучшить качество их жизни.

3. Коррекция иммунодефицитного состояния с помощью внутривенного введения иммуноглобулинов у онкологических пациентов в поздней стадии заболевания, также улучшает качество их жизни.

ХРОНИЧЕСКИЙ ПАНКРЕАТИТ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ИНСУЛИНЗАВИСИМОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА.

Н.А.Арапов¹⁾, Н.А.Овчарова¹⁾, Н.Ф.Трефильева²⁾, Е.В.Регогун²⁾, А.А.Троицкий²⁾

¹⁾Малинская районная больница, Московская область, Россия; ²⁾Медицинский исследовательский центр «Иммункулус», Москва, Россия (Immunculus@mail.ru)

Известно, что воспалительные процессы разной этиологии, развивающиеся в любом органе, могут сопровождаться активацией аутоиммунных реакций соответствующей органной направленности [Зайчик, Чурилов, 2000]. Иными словами – любое локальное воспаление, включающее изменения продукции множества цитокинов, активирует локализующиеся в данном органе резидентные лимфоциты, экспрессирующие рецепторы к органоспецифическим антигенам и повышает продукцию органоспецифических аутоантител (а-АТ). При локальном воспалении, наряду с локальными аутоиммунными процессами, часто наблюдается более или менее генерализованная органонеспецифическая

активация иммунной системы, сопровождающаяся повышением синтеза и сывороточного содержания а-АТ к ДНК, Fc-фрагментам иммуноглобулинов (ревматоидный фактор), бета2-гликопротеину, кардиолипину, компонентам межклеточного матрикса и другим повсеместно присутствующим антигенам.

Вторичная (индуцированная воспалением) активация аутоиммунных реакций имеет адаптивное значение. В частности, она способствует повышению эффективности клиренса органа от продуктов распада отмирающих клеток и активирует регенераторные процессы [Полетаев, 2007; Asakura et al., 1998]. В тоже время любые адаптивные реакции могут перейти в патологические (дезадаптивные), если их длительность и/или интенсивность выходят за допустимые рамки. Например, исходно приспособительное повышение продукции а-АТ к ДНК, кардиолипину, бета2-гликопротеину, способствующее клиренсу организма, ряде случаев может вести к развитию клинически выраженного антифосфолипидного синдрома [Sherer, Shoenfeld, 2004]. В свою очередь аномальное по длительности или интенсивности повышение органоспецифических аутоиммунных реакций может провоцировать не только регенеративные, но и деструктивные процессы.

Методы и пациенты. В нашей работе проводились динамические иммунохимические исследования пациентов, страдающих хроническим панкреатитом (n = 36; возраст от 38 до 56 лет, муж. 24, жен. 12). Длительность диагностированного заболевания составляла от 2 до 10 лет; экзокринная недостаточность поджелудочной железы подтверждалась копрологическими исследованиями; морфологические изменения в железе подтверждались данными УЗИ или КТ. С помощью ИФА (методы группы ЭЛИ-Тест) на протяжении двух лет в сыворотке крови пациентов 3-4 раза в год определяли уровни а-АТ к инсулину, инсулиновым рецепторам, дс-ДНК и Fc-фрагментам иммуноглобулинов [Полетаев, 2007]. В начале наблюдений и спустя 3 года у наблюдавшихся пациентов определяли резистентность к глюкозной нагрузке.

Результаты. Проведенные исследования показали, что 25 из 36 пациентов (69%) характеризовались постоянно повышенным уровнем а-АТ к инсулину. Изменения в содержании других а-АТ были не типичны для наблюдавшихся пациентов. Клинические обострения панкреатита обычно сопровождались 2-3 кратным повышением сывороточного содержания а-АТ к инсулину и менее выраженным транзиторным повышением со стороны других определявшихся а-АТ. Никто из пациентов к началу наблюдений не страдал сахарным диабетом 1 или 2 типа и не имел признаков нарушения толерантности к глюкозной нагрузке. Однако спустя 2-4 года от начала наблюдений у 6 из 25 пациентов, имевших постоянно повышенные уровни а-АТ к инсулину, были отмечены признаки нарушения толерантности к глюкозной нагрузке. В дополнительных исследованиях базального сывороточного содержания С-пептида у двоих из указанных шести пациентов было отмечено выраженное снижение содержания С-пептида (ниже 0,5 нМ/л).

Обсуждение. Данные динамических иммунохимических наблюдений за пациентами, страдающими хроническим панкреатитом, подтверждают, что длительное хроническое воспаление поджелудочной железы ведет к развитию стойких органоспецифических аутоиммунных реакций, проявляющихся повышением продукции и сывороточного содержания а-АТ к инсулину не менее чем в 2/3 случаев. В свою очередь, аномально длительная активация «антипанкреатических» аутоиммунных реакций в части случаев (возможно, в зависимости от индивидуальных наборов МНС) ведет к нарушениям эндокринной функции железы, интолерантности к глюкозной нагрузке и снижению базального уровня С-пептида.

Полученные данные позволяют полагать, что хронический панкреатит, как правило, сопровождается индукцией аномальных по продолжительности (перманентных) вторичных «антипанкреатических» аутоиммунных реакций, направленных в частности к бета-клеткам островком Лангерганса и, соответственно, может рассматриваться как фактор риска развития инсулинзависимого сахарного диабета.

Мы полагаем также, что хроническое воспаление поджелудочной железы (панкреатит), сопровождаемое стойкой активацией органоспецифичных аутоиммунных реакций, является лишь одним из частных случаев существенно более широкого биологического явления. В этой связи, регистрация и анализ изменений сывороточного содержания разных органоспецифических а-АТ может стать удобным инструментом мониторинга (и долгосрочного прогноза) за развитием воспалительных изменений, ведущих к нарушениям функциональной активности любых органов. Важно подчеркнуть, что вторичные изменения в содержании а-АТ при развитии локальных патологических процессов, являются универсальным феноменом и, соответственно, отражают начинающиеся или уже имеющиеся патологические процессы любого генеза (отнюдь не только аутоиммунные), изменяющие нормальный антигенный баланс в том или ином органе.

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ЧЕТВЕРТОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ГРУППЫ

Н.А.Арапов¹⁾, В.А.Юдин²⁾, И.Ю.Виноградов³⁾, И.В.Потапов⁴⁾, А.Б.Полетаев⁴⁾

¹⁾Малинская районная больница, Московская область, Россия; ²⁾Рязанский государственный медицинский университет, Рязань, Россия; ³⁾Рязанский областной клинический онкодиспансер, Рязань, Россия;

⁴⁾Медицинский исследовательский центр «Иммункулус»; Москва, Россия; ⁴⁾НИИ системной наномедицины и биотехнологии, Москва, Россия, (Immunculus@mail.ru)

Известно, что перевиваемые злокачественные клетки вызывают рост опухоли у животных-реципиентов далеко не всегда (и не сразу). Неоднократно отмечалась потеря ракового фенотипа, злокачественных клеток, инъецированных в здоровую ткань. Опухолевой трансформации листьев растений (образования галлов при интродукции viр-регулона) не происходит, если лист не имеет механических повреждений. Иными словами - онкоген внедряется, однако опухоль не растет до тех пор, пока лист остается интактным (травма индуцирует опухолевый рост в участке повреждения). По данным, Folkman а. Kalluri, исследовавших аутопсийные гистологические образцы разных органов случайно погибших людей, обособленные популяции злокачественных клеток («спящие» раковые опухоли) выявляются очень часто. Так, на срезах щитовидной железы у людей 50-70 лет популяции раковых клеток выявляются почти в 100% случаев, тогда как частота рака щитовидной железы у лиц той же возрастной группы не превышает 0.1%. Сходные примеры характерны для простаты, молочной железы и др. органов. Таким образом, большинство из нас, по видимому, несет в организме «спящие» опухоли, а рак как болезнь развивается лишь у части индивидов. Эти наблюдения трудно объяснить с позиций концепции онкогена. Ситуация проясняется если предположить, что мутации онкогенов являются необходимым, но недостаточным условием злокачественного опухолевого роста. По-видимому, для развития рака, как болезни, обязательно требуется еще и хроническое локальное повреждение (на уровне органа), ведущее к дисбалансу молекулярных сигналов, регулирующих пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток.

Если так – вряд ли стратегию лечения рака надо базировать на попытках уничтожения ВСЕХ раковых клеток. Даже если это удастся – без восстановления тканевого гомеостаза следует ожидать развития опухоли de novo. Возможно устранение хронического воспаления, т.е. по прекращению потока сигналов локальной стимуляции митозов, позволит отказаться от цитотоксической терапии в пользу более мягкой цитостатической. Сообщения о снижении частоты опухолевого роста на фоне длительного приема аспирина и др. НПВС подтверждают важность подавления воспалительного процесса. Важное значение мы придаем и системной иммунотерапии рака, поскольку именно иммунная система контролирует любые локальные воспалительные процессы, а также является главной эндогенной системой, регулирующей тканевую гомеостаз и репарацию.

Иммунитет и рак

Согласно Polly Matzinger (Danger Theory), иммунная система ни в коей мере не озабочена дифференцировкой «Своего» и «Чужого». Поэтому, в норме она не отторгает полуаллогенный плод и не индуцирует воспаления кишечника в ответ на присутствующую здесь обильную нормофлору. По Matzinger иммунная система дифференцирует ситуацию «Опасности» от ситуации «Нормы» и активируется при повышении локальной генерации сигналов «опасности повреждения», секретируемых поврежденными клетками или патогенными микроорганизмами (односпиральная ДНК, белки теплового шока и т.п.).

Антигены собственных неповрежденных клеток не воспринимаются иммунной системой как что-то опасное. Поэтому, повышение синтеза онкофетальных белков - АФП, РЭА, и др. в опухолевых клетках, не ассоциируется с сигналами опасности. В результате патологически пролиферирующие стволовые и не полностью дифференцированные клетки, вышедшие из-под системного тканевого контроля (растущие опухоли) обычно игнорируются иммунной системой (по крайней мере, на тех стадиях онкогенеза, когда процесс обратим). Итак, если раковая опухоль происходит из собственных клеток организма, *a priori* неиммуногенных и не посылающих «сигналов опасности», главной задачей иммунотерапии рака является отработка способов индукции направленных и обратимых антиопухолевых, по сути, аутоиммунных процессов.

Как же добиться того, чтобы иммунная система заметила и отторгла опухоль? Некоторые соображения по этому поводу мы попробуем изложить в форме тезисов, основанных как на данных литературы, так и на собственных наблюдениях.

1. Противоопухолевый иммунный ответ, как правило, отличается малой эффективностью. По этой причине, попытки иммунотерапии «в лоб» (по принципам противоинфекционной вакцинации) очевидного успеха не принесли.
2. Возможных, причин этого, по-видимому, несколько, в том числе:
 - Подавляющая часть антигенов прогрессивно растущей опухоли – это собственные антигены клеток организма (*априори* неиммуногенные).
 - Иммуногенные опухолевые клетки элиминируются иммунной системой (выживают и дают рост наименее иммуногенные, сохранившиеся в ходе отбора).
 - Возможно, растущая опухоль вырабатывает факторы, снижающие активность цитотоксических лимфоцитов или индуцирующие их апоптоз. В результате толерантности или анергии цитотоксических противоопухолевых лимфоцитов не возникает, однако лимфоциты не атакуют опухоль.
 - Некоторые авторы полагают, что взаимоотношения опухоли и иммунной системой напоминают взаимоотношения «забарьерного органа».
3. Таким образом, важным является вопрос как «очужеродить» клетки опухоли? Как локально повысить концентрацию «Danger signals» для активации «дремлющих» лимфоцитов? До некоторой степени этого можно добиться с помощью внутриопухолевых введений БЦЖ, провоспалительных цитокинов типа ФНО, ИЛ1, гамма-интерферона или с помощью векторов, обуславливающих интенсивную экспрессию «сигналов опасности» опухолевыми клетками.
4. Не исключено, что с помощью отмеченных выше подходов можно разработать способы индукции контролируемого и обратимого антиопухолевого аутоиммунного процесса, который станет ключевым в решении задачи опухолевого роста.

Мы попытались применить иной способ индукции противоопухолевого аутоиммунного процесса, основанный на направленных системных перестройках иммунной сети (Shoenfeld, см. настоящий сборник) с помощью «коктейля» специфических антиидиотипических антител – своего рода иммунохимических аналогов опухолевых антигенов, однако существенно более чуждых (т.е. несущих «признаки опасности» для организма), чем собственные антигены.

Антиидиотипическая вакцинация

Пациенты. Перед началом работы все пациенты получали подробную информацию об экспериментальном характере предполагаемого лечения, его сути, планируемых процедурах, и возможных побочных эффектах. Все включенные в работу лица предварительно давали информированное согласие на проведение вакцинации и регулярное наблюдение за их состоянием. На любом этапе пациент имел право отказаться от дальнейшего участия в работе.

Всего под нашим наблюдением находилось 2 пациента с далеко зашедшим злокачественным опухолевым процессом, которым проводилась четырехкратная вакцинация. Методика вакцинации описана ниже.

Вакцина. Для получения вакцинного материала мы иммунизировали кроликов Fab-фрагментами человеческих антител (АТ1) класса IgG, направленных к ряду наиболее распространенных опухолеассоциированных антигенов. Из полученных гипериммунных сывороток с помощью аффинной хроматографии выделяли антиидиотипические АТ2 и получали их Fab-фрагменты (Fab-АТ2). Последние являлись иммунохимическими аналогами опухолеассоциированных антигенов. Полученные Fab-АТ2 стерилизовали фильтрацией через миллипоровские фильтры, смешивали с равным объемом суспензией гидроокиси алюминия, фасовали в стерильные флаконы и использовали для вакцинации больных.

Вакцинация. Пациенты получали по 3 инъекции вакцины, подкожно, в 4-6 точек, с 2-недельными интервалами и, 2 мес. спустя, четвертую инъекцию. Однократно каждый получал по 0,5-1 мг Fab-АТ2 (по 2-4 мг Fab-АТ2 на курс).

Проводилось лечение больным с распространенными формами солидных злокачественных опухолей с рецидивами и метастазами, не принимавшими лечения не менее чем за 2 месяца до начала реабилитации и подлежащих только симптоматической терапии. Все больные ранее подвергались различным видам специального лечения (оперативного, лучевого, гормонального, химиотерапевтического) возможности которого к моменту проведения реабилитации оказались исчерпанными. Повторные курсы назначались при стабилизации процесса.

Пример-1. Больной Б. (63 лет, м.) Диагноз и краткое описание: рак нижней трети пищевода 4 клинической группы (T4N2M0); ранее безуспешно лечился различными химиопрепаратами. При росте 179 см масса тела составляла 62 кг. Не встает с постели. Аппетит резко снижен. Имеется почти полная непроходимость пищевода (проходит лишь жидкая пища с сильными болями при глотании на месте ракового поражения). Стоял вопрос о наложении гастростомы или постановке пищевода стента. После проведения 4-кратной вакцинации больной самостоятельно принимает жидкую и твердую пищу, стал самостоятельно передвигаться по квартире и гулять на улице. Улучшилось настроение, нормализовался сон. Масса тела через 2 месяца составляет 65 кг. Размеры опухоли уменьшились приблизительно вдвое; уменьшились размеры метастатических очагов. Срок наблюдения в настоящее время составляет 10 месяцев, наблюдение продолжается.

Пример-2. Больная М. (43 года, ж.). Исходный диагноз и краткое описание: первичный иноперабельный рак печени (опухоль без четких границ размером около 10-15 см в левой доли печени с субтотальной деструкцией левой доли, множественные метастазы с распространением по брюшине, в легкие, в позвоночник, в головной мозг. Непереносимость к химиотерапии. Ожидаемая продолжительность жизни к моменту начала вакцинации – менее 1 месяца. В процессе вакцинации состояние больного улучшилось. Уменьшились размеры первичной опухоли и численность метастазов (некоторые очаги с признаками кальцификации). Живет более 1 года с удовлетворительным качеством жизни. Наблюдение продолжается.

На протяжении ряда лет мы изучали также эффекты воздействий, направленных на подавление воспалительных процессов и нормализацию обменных процессов. Всего

под наблюдением находилось 625 пациентов со злокачественными опухолями разных стадий. Эффективность лечения оценивали по следующим критериям.

1. Полное исчезновение или регресс очагов поражения больше чем на 50% сроком более 2 месяцев.
2. Уменьшение размеров опухоли на 25-50% сроком не менее чем на 1-2 месяца
3. Уменьшение размеров менее чем на 25% или стабилизация процесса
4. Отсутствие эффекта.

При оценке состояния больных дополнительно учитывали такие показатели как: снижение или нормализация температуры тела, снижение выраженности болевого синдрома (вплоть до отмены обезболивающих), уменьшение слабости, исчезновение отеков, кровохарканья или кровотечений, появление аппетита, увеличение двигательной активности, стабилизация массы тела, улучшение настроения. Ниже приводятся основные заключения, сделанные на основании наших наблюдений.

А) При развитии раковой кахексии процесс обычно не удается компенсировать ни с помощью энтерального, ни с помощью парентерального питания. Однако, ежедневный пероральный прием 12-15 мл рыбьего жира на протяжении 7-10 дней часто останавливает прогрессию кахексии. Масса тела стабилизируется, а еще через 2-3 недели не менее чем у половины больных отмечается увеличения массы тела. Не исключено, что отмеченные эффекты отчасти связаны с многообразными проявлениями биологической активности омега-3-полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав рыбьего жира.

Б) В последнее десятилетие интерес многих врачей обратился к препаратам растительного происхождения. Несмотря на слабую изученность химического состава и механизмов действия большинства фитосборов, включение в них трав антигипоксантов, существенно улучшает общее состояние и самочувствие значительной части онкологических больных при длительном (месяцы) применении специально подобранных фитосборов. Возможно, некоторые растительные сборы способствуют инактивации продуктов распада злокачественных клеток, а также эндотоксинов, образующихся в результате снижения эффективности работы органов желудочно-кишечного тракта, печени, почек и кожных покровов больных.

В) Применение препаратов, блокирующих анаэробный гликолиз в комбинации с субстратами клеточного дыхания (убихинон, карнитин, гидразин сульфат и др.) привело к значительному улучшению состояния многих больных. Механизм действия таких препаратов, возможно, связан с ингибированием активности моноаминоксидазы и/или характерного для большей части злокачественных клеток анаэробного гликолиза. Как следствие, в раковых клетках активировались процессы аэробного окислительного фосфорилирования, характерные для зрелых клеток и повышалась интенсивность апоптоза. По-видимому, эти эффекты родственны тем, что индуцируются дихлорацетатом натрия, на который, после публикаций Е. Michelakis (2007-2008) возлагаются определенные надежды.

Г) В части случаев мы отмечали цитостатические эффекты и снижению темпов развития метастатического процесса при применении интерферонов.

Д) Парентеральное введение препаратов альфа-фетопротеина у лиц с умеренно и высокодифференцированными опухолями как правило приводило к регрессии опухолевых очагов с образованием кисты на месте локализации опухолевой ткани с последующим замещением их соединительной тканью.

Е) Мы отмечали, что пероральное применение ингибитора циклооксигеназы-2 – целекоксиба (целебрекса) в ежедневной дозе до 400 мг приводит к выраженному уменьшению или исчезновению болевого синдрома. Противопоказанием к применению этого препарата являлись опухоли поджелудочной железы.

Заключение

Для формирования будущей эффективной стратегии борьбы со злокачественным опухолевым ростом, необходимо учитывать системность самого феномена малигнизации; принимать во внимание, что рак – это болезнь не генов, а организма. Поэтому, даже гарантированно уничтожив трансформированные клетки, мы рискуем получить рецидив болезни, если не уделим внимания системному восстановлению функций организма. Возможно, во главу угла должна ставиться устранение системных факторов, способствующих формированию и росту опухоли, в сочетании с «перенацеливанием» и активацией по сути аутоиммунных противоопухолевых процессов.

Результаты наших исследований свидетельствуют, что индукция антиопухолевого аутоиммунного процесса может быть достигнута при вакцинации пациентов «коктейлем» специфических антиидиотипических антител. Ингибирования опухолевого роста удавалось достичь и с помощью неспецифического подавления локальных воспалительных процессов и нормализации обменных процессов.

На наш взгляд, полученные результаты внушают осторожный оптимизм и служат основанием для последующих попыток терапии далеко зашедших (инкурабельных) случаев рака с помощью сочетаний антиидиотипической вакцинации и воздействий, направленных на восстановление и стабилизацию основных функционально-метаболических параметров целого организма и отдельных органов.

В ТАКТИВИНЕ ПРИСУТСТВУЮТ МОЛЕКУЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ МИКРООКРУЖЕНИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ТИМУСЕ

В.Я. Арион, М.Н. Короткова, С.Н. Москвина, И.В. Зимина, О.В. Быстрова

ФГУ «НИИ Физико-Химической Медицины Росздрава», Москва, Россия

Результатом пребывания предшественников тимоцитов в тимусе является их полное созревание и превращение в иммунокомпетентные высокодифференцированные Т-клетки. Ранее было показано, что первичной мишенью повреждающего действия кортизона является эпителиальная клетка, тогда как дегенеративные изменения в тимоцитах возникают вторично, вероятно, вследствие изменения их микроокружения (Weker H, 1980; Vakhara D.D., 1984). Это наблюдение подтверждается тем, что тимоциты, находящиеся вне эпителиальных клеток, более устойчивы к действию кортизона. Дегенерация тимоцитов внутри эпителиальных клеток-кормилиц («клеток-нянек») происходит через 16 часов после обработки глюкокортикоидами, а через 48-50 часов в «клетке-няньке» образуется полость. Этот процесс обратим, так как пустые эпителиальные клетки-кормилицы через 140-150 часов снова заполняются пре-Т-клетками (Kuevski, 1982). Настоящее исследование было посвящено изучению влияния препарата тимуса тактивина на спектр изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тимусе мышей после воздействия гидрокортизона.

Мышей линии С57В1/6 разделяли на 5 групп:

Г-1 - интактные (спектр изоферментов ЛДГ оценивали в течение всего опыта);

Г-2 – получали в/б по 1 мкг тактивина в течение 6 дней (спектр изоферментов оценивали на 10-й день);

Г-3 - получали 1 инъекцию гидрокортизона; 200 мкг/кг (спектр изоферментов оценивали на 3-й день);

Г-4 - получали 1 инъекцию гидрокортизона; 200 мкг/кг (спектр изоферментов оценивали на 10-й день);

Г-5 - получали 1 инъекцию гидрокортизона; 200 мкг/кг, и через трое суток – тактивин; в/б по 1 мкг в течение 6 дней (спектр изоферментов оценивали на 10-й день).

Выявлено следующее распределение изоферментов ЛДГ (в %) в группах:

Г-1 - ЛДГ1 $8 \pm 0,5$; ЛДГ2 $15,0 \pm 0,1$; ЛДГ3 $19,0 \pm 0,1$; ЛДГ4 $32,5 \pm 0,5$; ЛДГ5 $25,0 \pm 0,1$.

Г-2 - ЛДГ1 $7,5 \pm 0,07$; ЛДГ2 $16,0 \pm 0,5$; ЛДГ3 $18,9 \pm 0,1$; ЛДГ4 $33,1 \pm 0,4$; ЛДГ5 $25,0 \pm 0,1$.

Г-3 - ЛДГ1 $2,0 \pm 0,03$; ЛДГ2 $3,0 \pm 0,04$; ЛДГ3 $8,0 \pm 0,1$; ЛДГ4 $17,0 \pm 0,1$; ЛДГ5 $70,0 \pm 0,1$.

Г-4 - ЛДГ1 3,5±0,03; ЛДГ2 6,0±0,05; ЛДГ3 10,0±0,1; ЛДГ4 23,0±0,1; ЛДГ5 57,5±0,1.

Г-5 - ЛДГ1 8,0±0,6; ЛДГ2 16,0±0,1; ЛДГ3 20,0±0,1; ЛДГ4 31±0,2; ЛДГ5 24,5±0,1.

Результаты экспериментов указывают на то, что введение мышам тактивина не изменяет спектр изоферментов ЛДГ (группа 2). Введение гидрокортизона уже на третьи сутки резко уменьшает количество ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4 и почти в 3 раза увеличивает количество ЛДГ5 (группа 3). На 10-е сутки после введения мышам гидрокортизона спектр изоферментов ЛДГ начинает восстанавливаться, но нормативного уровня не достигает (группа 4). Однако при введении тактивина мышам, получившим гидрокортизон (группа 5), процентное содержание изоферментов ЛДГ под действием данного иммунокорректора полностью восстанавливается к 10-му дню эксперимента. Следовательно, в иммунокорректирующем препарате тимуса тактивине содержатся молекулы, которые составляют микроокружение тимоцитов в тимусе.

Можно заключить, что тимус является уникальной эндокринной железой, поскольку, в отличие от других эндокринных органов, синтезирует не только гормоны (тимулин, α -1-тимозин, тимопоэтин и др.), регулирующие иммунопоэз вне железы, но и вещества («внутритимическое микроокружение»), без которых не могут полноценно происходить процессы пролиферации и дифференцировки тимоцитов.

ВЫЯВЛЕНИЕ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННОГО БЕЛКА СУРВИВИНА С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ К СИНТЕТИЧЕСКИМ ПЕПТИДАМ

Ахидова Е.В., Волкова Т.Д., Короев Д.О., Кармакова Т.А.*, Якубовская Р.И.*, Филатова М.П., Вольпина О.М.

*ИБХ им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва; *Онкологический институт им. П.А.Герцена, Москва, Россия*

Сурвивин – эндогенный белок из семейства белков-ингибиторов апоптоза (IAP). Данный белок участвует в процессе митоза и способен подавлять апоптоз. Он присутствует преимущественно в эмбриональных тканях и не обнаруживается в окончательно дифференцированных взрослых тканях, однако сверхэкспрессируется в разнообразных неоплазмах человека. Экспрессия сурвивина продемонстрирована в опухоли легкого, молочной железы, пищевода, мочевого пузыря, матки, яичников, при лейкемии, нейроblastомах, меланомах и опухолях желудка, при раке толстой кишки и печени, щитовидной железы, при остеосаркоме и раке предстательной железы. Многие исследователи отмечают корреляцию экспрессии данного белка с более агрессивным фенотипом, укороченным временем жизни и пониженным ответом на химиотерапию, кроме того, важным прогностическим значением обладает и локализация его в ядре или цитоплазме. Можно полагать, что разработка способов мониторинга за экспрессией сурвивина будет полезной для диагностике опухолей и выбора оптимальной схемы их терапии. В связи с этим нами была поставлена задача разработки способа выявления сурвивина в опухолях. Мы предположили, что антитела (АТ) к данному белку, помогут выявлять его в тканях иммуногистохимически.

Для получения АТ мы использовали синтетические фрагменты белка. Были выбраны четыре фрагмента последовательности сурвивина-2В человека, включающие потенциальные Т-хелперные и В-эпитопы: (1-22), (54-74), (118-144) и (80-88)–(153-165). Соответствующие пептиды были синтезированы твердофазным методом в соответствии с Fmoc-стратегией и использованы для иммунизации кроликов. С помощью ИФА было показано, что пептиды стимулируют образование высокого уровня АТ, связывающихся с рекомбинантным белком. Для исследования возможности выявления белка сурвивина в опухолевых тканях АТ из кроличьих сывороток очищали с помощью аффинной хроматографии на колонках с иммобилизованными синтетическими пептидами. Связывание аффинноочищенных АТ с рекомбинантным сурвивином тестировали в иммуноблоте. Все АТ выявляли белок, но наиболее сильное окрашивание показали АТ к пептидам (80-88)–(153-165) и (118-144).

Иммуногистохимическое исследование проводили методом непрямого иммунопероксидазного анализа на парафиновых срезах опухолей четырех пациентов с диагнозом инфильтративно-протоковый рак молочной железы, используя полученные АТ. В качестве отрицательного контроля использовались срезы, обработанные очищенными иммуноглобулинами кролика. Во всех случаях контроля не было отмечено специфического окрашивания, в то время как при использовании АТ к пептиду(80-88)-(153-165) в разведении 1:20 специфическая реакция наблюдалась во всех четырех образцах. При этом было отмечено сильное гранулярное окрашивание цитоплазмы опухолевых клеток и отсутствие окрашивания ядер. При использовании АТ к пептиду (54-74) в разведении 1:5 в одном из четырех образцов наблюдалось слабое гранулярное окрашивание цитоплазмы опухолевых клеток, а, кроме того, окрашивание ядер единичных клеток. В настоящее время с помощью иммуногистохимии проводится более подробное исследование специфической активности АТ к эпитопам сурвивина на разных типах опухолей.

АНТИТЕЛА-АБЗИМЫ ПРИ АУТОИМУННОМ МИОКАРДИТЕ

Ахмедилова К.А., Воробьев И.И., Шогенов З.С., Пономаренко Н.А., Кекенадзе Н.Н., Габиев А.Г., Сучков С.В.

ММА им. И.М. Сеченова, Москва; РГМУ, Москва; МГМСУ, Москва; ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ГКБ №70, Москва; ГКБ №81, Москва, Россия

Актуальность проблемы. Появление в крови аутоантител (аутоАТ) с каталитической активностью, обладающих перекрестной реактивностью в весьма широких пределах и готовых к реализации ряда эффекторных функций, рассматривается как один из ключевых факторов в патогенезе аутоиммунных заболеваний.

Целью работы являлось исследование у больных аутоиммунным миокардитом (АИМ) и у мышей аутоиммунных линий АТ-абзимов, специфически гидролизующих кардиомиозин (КМ) и двуцепочечную ДНК (*дцДНК*), с оценкой значимости выявленных феноменов для патогенеза АИМ.

Материалы и методы. Исследованы сыворотки крови 99 больных с разными вариантами течения миокардита и 40 клинически здоровых доноров (ЗД). Группу 1 составили больные со злокачественным течением АИМ (ЗАМ); группу 2 - больные с доброкачественным течением (ДАМ); группу 3 - больные миокардиосклерозом (МКС). В модельных экспериментах исследовали мышей со спонтанными (линии NZB/NZW F₁ и MRL) и индуцированными (SJL) формами аутоиммунной патологии, для контроля использовали мышей BALB/c. Проводили ИФА определение сывороточных титров IgG и IgM, а также титров анти-КМ и анти-ДНК аутоАТ; КМ- и ДНК-связывающих аутоАТ выделяли аффинной хроматографией на иммобилизованных КМ и *дцДНК*, соответственно. Определение неспецифической протеолитической активности в препаратах АТ проводили флуоресцентным методом, используя в качестве субстрата БСА, меченный ФИТЦ. Для определения КМ-специфической протеолитической активности анти-КМ АТ, полученные после аффинной хроматографии материалы, инкубировали со специфическим субстратом (КМ). Продукты протеолиза выявляли с помощью электрофореза в ПААГ с окрашиванием Кумасси. Скрининг образцов крови на наличие ДНК-абзимов проводили аффинной сорбцией с определением ДНК-гидролизующей активности.

Результаты. Уровень анти-КМ аутоАТ IgG- и IgM-изотипов в сыворотках крови больных с АИМ достоверно превышал аналогичные показатели у больных с МКС и клинически ЗД. При этом уровень таких АТ у больных ЗАМ был заметно выше по сравнению с ДАМ. Сходная картина наблюдалась и в группе экспериментальных животных. Содержание анти-КМ аутоАТ обоих изотипов достигало максимальных значений в сыворотках крови мышей двух аутоиммунных линий - SJL и NZB/NZW - и опускалось до минимума в сыворотках контрольных мышей линии BALB/c. У мышей аутоиммунных линий SJL и NZB/NZW повышенные титры сывороточных аутоАТ коррелировали с высокими значениями как неспецифической, так и специфической протеолитической ак-

тивности в отношении мышинового КМ. При этом показатели АТ-опосредованного протеолиза у мышей линии MRL мало отличались от аналогичных значений, установленных для контрольной линии BALB. Препараты аутоАТ, полученные из сывороток крови 64 из 98 обследованных больных с АМ (65%), обладали как неспецифической каталитической (протеолитической) активностью в отношении БСА, так и специфической протеолитической активностью в отношении КМ. Доля АТ, полученных от больных АИМ и связавшихся с КМ-сефарозой, варьировала от 2 до 12% от общего количества наносимого на сорбент IgG. У больных АИМ анти-КМ аутоАТ обладают специфической протеолитической активностью, варьирующей по глубине и специфичности гидролиза субстрата в зависимости от клинической формы аутоиммунной патологии – при более тяжелых формах или острых, высокоактивных клинических вариантах течения заболевания (у больных ЗАМ преобладают низкомолекулярные фрагменты; у больных ДАМ и МКС - деградация субстрата АТ-протеазами носит более ограниченный характер или отсутствует). Каталитическая (протеолитическая) активность таких АТ полностью элиминировалась после прединкубации с иммобилизованными антивидовыми АТ, что свидетельствует в пользу абзиматической природы наблюдаемой нами активности, исключая возможность контаминаций. У больных ЗАМ отмечены наибольшие величины как неспецифической, так и специфической АТ-опосредованной протеолитической активности, что в 94% случаев коррелировало с максимальным содержанием в крови вышеуказанных пациентов анти-КМ аутоАТ обоих изотипов. При ДАМ, однако, повышенное содержание в крови анти-КМ аутоАТ лишь в 36% случаев сочеталось с ростом их протеолитической активности, а при ЗАМ, наоборот, при высокой протеолитической активности почти у трети (28%) больных сывороточные титры анти-КМ аутоАТ не превышали уровень доноров более, чем на 12-18%. Можно в этой связи полагать, что в ряде случаев тенденция к росту каталитической активности среди АТ-протеаз не связана с ростом количества анти-КМ аутоАТ в периферическом кровотоке, а имеет отношение к свойствам самой молекулы такого рода АТ и ее адаптационным возможностям в организме пациента. Тем не менее, в подавляющем большинстве случаев для больных АИМ, в первую очередь, с ЗАМ, имеющих высокие цифры содержания в крови анти-КМ аутоАТ, характерным является максимальные уровни АТ-опосредованной протеолитической активности, проявляющие выраженную ассоциативность с наличием соответствующих аутоАТ. У больных МКС в 82% случаев АТ-опосредованная протеолитическая активность отсутствовала. Вместе с тем, в 18% случаев, несмотря на минимальные величины содержания циркулирующих в крови анти-КМ аутоАТ, отмечены цифры заметно повышенной АТ-опосредованной протеолитической активности. Появление у больных с МКС анти-КМ АТ-протеаз может указывать на обострение заболевания, о чем косвенно свидетельствует рост сывороточных титров аутоАТ IgM-изотипа. Не исключен также факт активации самого аутоиммунного процесса, в том числе, с участием механизмов АТ-опосредованной цитотоксичности, которые занимают весомое место в общей схеме патогенеза АИМ и МКС. По-видимому, феномен катализа (протеолиза) с участием антимиокардиальных аутоАТ является весьма важным критериальным признаком деградации миокарда при хронически-рецидивирующем АИМ с возможным переходом последнего в МКС.

Заключение. При ЗАМ отмечены наибольшие титры анти-КМ и анти-ДНК АТ, коррелирующие с каталитической активностью АТ-протеаз и ДНК-абзимов; при ДАМ повышение активности абзимов менее выражено; при МКС рост сывороточных титров анти-КМ и анти-ДНК аутоАТ, а также каталитической активности абзимов выявлены в периоды обострения заболевания, причем глубина гидролиза субстратов (КМ и ДНК) коррелирует со специфической каталитической активностью абзимов.

ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПРИ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ ПЛОДА

В.М.Бадюк^{1,2}, О.Г.Якименко², Н.И.Раковская², Т.В.Никитчина², Н.М.Билько¹

¹-Национальный университет «Киево-Могилянская академия», Киев, Украина

² - ООО «Академическая клиника», Киев, Украина

Рождение ребенка с врожденной или наследственной патологией – серьезная социально-экономическая проблема, как для отдельной семьи, так и для общества в целом. Не всегда возможно однозначно определить причину формирования пороков развития, как и ответить на вопрос, почему в определенном случае беременность плодом с хромосомной патологией (ХП) прерывается на ранних сроках, в другом – без осложнений заканчивается рождением ребенка с такой же ХП. Наиболее часто у живорожденных с подозрением на ХП определяется трисомия хромосомы 21 (синдром Дауна), частота этой патологии для Киева составляет в среднем 1:806.

Целью нашей работы являлся анализ особенностей иммунореактивности сыворотки крови беременных в первой половине беременности, в ситуации подтвержденной у плода трисомии по хромосоме 21.

Материалы и методы. Комплексный скрининг беременных на ХП (трисомию 21) проводился с учетом данных ультразвукового обследования, определения концентрации маркерных белков иммунохемилюминесцентным методом (РАРР-А, β -ХГЧ – в 10-13 недель, АФП, ХГЧ, свободного эстриола – в 14-20 недель), на основании которых рассчитывался индивидуальный риск и формировалась группа высокого риска, в которой по информированному согласию женщины проводились инвазивные исследования (биопсия хориона, плаценты). При хромосомной патологии, определенной в образцах плаценты, проводился кордоцентез для подтверждения хромосомной патологии по лимфоцитам пуповинной крови плода для исключения случаев ограниченного плацентарного мозаицизма. Определение сывороточной иммунореактивности проводилось с помощью ИФА метода «ЭЛИ-П-Комплекс» согласно инструкции производителя. Оценка результатов ЭЛИ-П-Комплекса проводилась в соответствии с рекомендациями разработчика.

Результаты и обсуждение. При проведении скрининговых исследований и определении кариотипа плода с января по март 2008 г. было обнаружено 7 плодов с регулярной трисомией хромосомы 21 (2 - после скрининга первого триместра в 11 и 12 недель беременности и 5 – после скрининга второго триместра в 17, 18, 19, 19 и 20 недель беременности). Средний возраст женщин с трисомией 21 у плода составил 32, 4 года. В четырех случаях беременность была первой, в одном случае после применения ЭКО. В двух случаях в анамнезе отмечались медицинские аборт и замершая беременность, в обоих случаях текущая беременность была пятой по порядку. Ни в одном случае не отмечалось признаков внутриутробной инфекции, каких-либо хронических заболеваний беременной и отягощенной родословной.

У всех обследованных беременных отмечали отклонения сывороточной иммунореактивности, зависящей от изменений в содержании эмбриотропных аутоантител (АТ). При этом гипореактивность (по многим АТ) отмечалась у двух женщин (у плода одной из них был выявлен порок сердца). Гиперреактивность отмечалась у трех женщин (нарушений течения беременности и пороков развития плода на момент обследования отмечено не было). В одном из этих случаев беременность наступила после лечения бесплодия методом ЭКО. Было отмечено два случая нескоординированных изменений в содержании АТ, причем, в обоих случаях имелись признаки угрозы прерывания беременности. Известно, что в большинстве случаев хромосомной патологии плода в материнской сыворотке повышается уровень ХГЧ, который является одним из маркеров ХП плода. В нашем исследовании уровень ХГЧ превышал соответствующую гестационную норму в 1,6-11,3 раза (средний уровень составил 4,6 раз); при этом ни в одном случае не отмечалось гиперпродукции АТ к ХГЧ. Не было отмечено также гиперпродукции АТ к β 2-гликопротеину, антиидиотипических АТ к β 2-гликопротеину и Fc-фрагменту имму-

ноглобулинов. Повышенная продукция АТ к ДНК присутствовала в одном случае (+402%) у женщины 38 лет с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом (медицинские аборт и замершая беременность). Гиперпродукция АТ к коллагену (+43%... +147%) и белку S100 (+60%... +292%) отмечалась в трех случаях у одних и тех же беременных. Повышенная продукция АТ к белку МР-65 отмечалась в четырех случаях (+68%... +215%), в двух из которых это был единственный белок, к которому продукция АТ была повышена.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что беременность плодом с трисомией по 21 хромосоме практически всегда сопровождается нарушениями со стороны иммунной системы матери и проявляется изменениями продукции эмбриотропных ауто-АТ (особенно к белку S100). При этом, наступление беременности и ее развитие может не сопровождаться какими-либо отклонениями.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ И АДАПТИВНОЙ ВЕТВЕЙ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ОЧАГОВЫМИ И ДИССЕМИНИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ АУТОИММУНОЙ ПАТОЛОГИИ КОЖИ

Е.Л. Баркова, А.В. Косталевская, А.Н. Хитров, Ю.Н. Перламутров, Е. Matsuura, С.В. Сучков

МГМСУ, Москва, Россия; ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; Dept of Cell Chemistry, Okayama University, Okayama, Japan

Для развития и прогрессирования аутоиммунных заболеваний кожи характерна многостадийность с формированием соответствующей картины иммунопатологии, отличающейся разнообразием и наличием комбинированных нарушений в эффекторных и регуляторных звеньях иммунитета, что сочетается с формированием как классического аутоиммунного синдрома, так и вторичного иммунодефицита (ВИД). Соответственно, обнаружение у больных с ДКВ (дискоидной красной волчанкой) и ОСД (очаговой склеродермией) предварительных (ориентировочных) признаков аутоиммунной патологии (повышение сывороточного IgG/IgM, появление антитканевых и антимаркерных аутоантител/аутоАТ и др.), требовало дальнейших исследований, в частности, состояния наследственной и адаптивной ветвей иммунитета.

Целью и задачами работы было сравнительное изучение вкладов наследственной и адаптивной ветвей иммунореактивности в развитие очаговых и диссеминированных форм аутоиммунной патологии кожи.

Все больные были распределены по признакам аутоиммунного синдрома и ВИД на три основные группы. Группу 1 составил 61 пациент (подострой кожной (диффузной) дискоидной КВ (ПККВ); хроническая дискоидная КВ (ХДКВ); центробежная эритема (ЦЭ); эрозивно-язвенная форма КВ (ЭЯКВ); глубокая форма КВ (ГФКВ) и ОСД) с комбинацией аутоиммунного синдрома (АУС) и ВИД (ВИДАУС). Группу 2 – 24 пациента (ПККВ; ХДКВ; ЦЭ; ЭЯКВ; ГФКВ и ОСД) с ВИД (в том числе, подгруппы 2а и 2б – с ВИД по Т-звену иммунитета (ТИВИД) и с синдромом изолированной гиперфункции НК-клеток (СИГЕК), соответственно). Группу 3 – 18 больных (ХДКВ – 10 и ОСД - 3) без признаков иммунопатологии.

Объектом исследования служили образцы крови больных, не получавших иммуносупрессивной или иммуномодулирующей терапии.

Результаты. Наиболее активные и распространенные по площади и глубине поражения кожи клинические формы отмечаются при ВИДАУС (группа 1) и СИГЕК (подгруппа 2б). У таких больных преобладали бляшечные распространенные (реже бляшечные ограниченные и линейные формы) ОСД, а в случае КВ – ПККВ, ЦЭ, ЭЯКВ и ГФКВ. Большинство пациентов предъявляли жалобы на субъективные ощущения в области пораженных участков кожи и парестезии. В каждом статусе таких больных доминировали:

- при ОСД - диссеминированные красные пятна или множественные бляшки с характерным сиреневым кольцом по периферии, отличающиеся выраженным уплотнением

и симметрией расположения на теле; несмотря на минимальные сроки развития заболевания процесс, будучи широко распространенным и клинически крайне активным, как правило, имеет тенденцию к прогрессированию;

- при ПККВ - множественные неоднородные по морфоструктуре очаги поражения (эритематозные пятна, в том числе, с признаками инфильтрации и гиперкератоза, а также участки рубцевания с гипер- или гипопигментацией), рассеянные на коже лица, туловища, волосистой части головы и клинически не отличающиеся (при положительном симптоме Бенъе-Мещерского) от очаговой архитектоники при ХДКВ; в единичных случаях (при ярко выраженном аутоиммунном синдроме) отмечались признаки поражения внутренних органов с наличием синдромальной патологии и вероятностью трансформации в системный процесс;

- при ГФКВ - глубоко расположенные узловатые образования плотной консистенции, преимущественно, в области плеч, лица и ягодиц, в том числе, кальцифицированные, иногда – с зонами атрофии;

- при ЭЯКВ – участки выраженного воспаления, на фоне которого возникали эрозии, трещины и язвы с серозными и серозно-кровянистыми корками; эрозии нередко располагались на инфильтрированном основании с явлениями гиперкератоза и атрофии по периферии очага;

- при ЦЭ – на фоне отсутствия классической кожной симптоматики яркие, иногда отечные, резко ограниченные эритемы, сопровождающиеся нестойким субфебрилитетом, иногда болями в костно-суставном аппарате. У части (около 10%) пациентов с ВИДАУС и СИГЕК, в первую очередь, больных с ЦЭ и ГФКВ, наблюдались признаки трансформации очаговых форм в системный процесс, что необходимо учитывать клиницисту при внесении изменений в программу иммунотерапии.

У больных с ТИВИД (подгруппа 2а) и, особенно, группы 3 субъективные ощущения, как правило, отсутствовали, а кожный статус представлял полиморфную картину, в которой преобладали в случае ОСД ограниченные формы и атрофодермия Пазини-Пьерини, а в случае КВ-ХДКВ с единичными эритематозными очагами. Заболевание прогрессировало медленно, а сроки его развития варьировали. Сходная картина была у больных группы 3, не имевших признаков иммунопатологии, у которых не выявлялось симптомов генерализации процесса или его прогрессирования.

Таким образом, иммунопатологическая картина при кожных формах КВ и ОСД заметно различается, коррелируя с клиническими особенностями в каждом конкретном случае – от достаточно однородной картины у больных группы 3 до гетерогенного спектра иммунных нарушений при СЕГЕК и ТИВИД и, особенно, ВИДАУС, с развитием наиболее тяжелых форм иммунопатологии кожи.

Вероятно, развитие аутоиммунных заболеваний кожи связано с состоянием сложнейшей по архитектонике и принципам кооперации двухзвенной системы иммунитета. Именно дисбаланс взаимодействия механизмов наследственного и адаптивного иммунитета, а не их селективные дефекты, является определяющим в развитии у больных с КВ и ОСД той или иной формы иммунопатологии или трансформации очаговых в системные формы. Для КВ и ОСД установлены четыре иммунологических фенотипа – ВИДАУС, ТИВИД, СИГЕК и без признаков иммунопатологии, отличающиеся патогенетически и клинически, но имеющие в каждом случае признаки иммунопатологии двухзвенного уровня. При этом для СИГЕК доминирующим является синдром изолированной гиперфункции НК-клеток, затрагивающий, главным образом, наследственную ветвь иммунитета, тогда как в патогенезе ВИДАУС и ТИВИД превалируют аутоиммунный синдром и ВИД, соответственно, отражающие пропорциональное участие двух ветвей – наследственной и адаптивной – в развитии и прогрессировании вышеуказанных форм кожной патологии.

Особенности комбинаторики вкладов каждого из звеньев иммунитета осложняют клиническую интерпретацию клинической формы и варианта течения заболевания и за-

трудняют разработку единой классификации кожных форм аутоиммунной патологии, тем более, что в структуре такой классификации должен быть учтен ассоциативный характер взаимоотношений между конкретным набором иммунологических нарушений и картиной метаболических сдвигов, в том числе, в структуре мезенхимальной и сосудистой тканей. Понимание механизмов аутоиммунного воспаления при кожных формах патологии за последние годы углубилось, что дало толчок к разработке новых технологий диагностики и патогенетически обоснованного лечения КВ и ОСД. Это создает предпосылки для развития новых методов иммунодиагностики и иммуномониторинга аутоиммунных заболеваний кожи и соединительной ткани. Разработка и внедрение в практику комплекса клинико-иммунологических методов исследования позволит разработать дополнительные критерии мониторинга за развитием и прогрессированием заболевания и внедрить новые дифференциальные подходы к ведению больных.

Выводы

1. Установлена взаимосвязь между содержанием и активностью дендритных клеток и цитотоксических лимфоцитов как важных параметров адаптивного иммунитета и вариантами течения ДКВ и ОСД:

(а) для дендритных клеток с фенотипами $CD1d^+$, $CD80^+$, $CD83^+$ и $CD86^+$, с одной стороны и функционально активными цитотоксическими лимфоцитами с фенотипом $CD158a/b$, $CD161^+$, $CD94^+$ и $CD8^+CD94^+$, с другой;

(б) для указанных кластеров дендритных клеток и цитотоксических лимфоцитов с распространенностью кожных высыпаний с одной стороны и выраженностью аутоиммунного синдрома с другой.

(в) установлены наиболее значимые корреляции этих параметров в группе больных с ВИДАУС. Тогда как при ТИВИД и, отчасти, СИГЕК она отсутствует.

2. Наличие корреляции между $CD1d^+$ и $CD21$ у ВИДАУС и отсутствие ее при СИГЕК свидетельствуют о ключевой роли этих маркеров мембранных рецепторов для компонента в активации механизмов адаптивного иммунитета и индукции комплемент-зависимой цитотоксичности.

3. У больных с ВИДАУС выявлена корреляция для активационных и костимуляторных маркеров лимфоцитов с одной стороны и маркеров ДК ($CD21^+$, $CD25^+$, $CD27^+$, $CD28^+$, $CD69^+$, $HLA-DR^+$, $CD1c^+$, $CD1d^+$, $CD71^+$, $CD80^+$, $CD83^+$ и $CD86^+$), с другой. При отсутствии признаков иммунопатологии и у больных с СИГЕК нет.

4. (а) Выявлена зависимость между содержанием клеток, экспрессирующих активационные маркеры и цитотоксическими клетками (для больных с ВИДАУС).

(б) В группе с ВИДАУС обнаружена и обратная зависимость – на фоне роста большинства вышеуказанных клеток с активационными фенотипами отмечено снижение числа специализированных цитотоксических клеток с редкими фенотипами.

5. Наличие корреляции между агрессивностью заболевания в случае ВИДАУС и СИГЕК и динамикой клеток $CD44^+$, определяющих характер межклеточных контактов в зоне воспалительного очага. При ТИВИД такая корреляция отсутствует.

МЕСТНАЯ И СИСТЕМНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА ПРИ СМЕШАННЫХ МИКРОБНО-ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Беляев Д.Л., Долгина Е.Н.*, Огородова Л.М., Пенкина Н.И.***, Бабаянц А.А., Фролова И.С., Хатунцева Н.В.**

НИИ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва, РГМУ, Москва, Сибирский государственный медицинский университет, Томск**, Ижевская государственная медицинская академия, Ижевск***, Россия. e-mail: belyaey18@yandex.ru*

Течение атопического дерматита (АТД) усугубляется сопутствующими хроническими заболеваниями бактериально-паразитарно-вирусной этиологии (стафилодермии, фурункулез, микоплазмозы, хламидиозы, кандидозы, вирусные заболевания группы герпеса 1,2,4,5 и 6 типов, респираторные и кишечные вирусы, токсоплаз-

моз, лямблиоз и др.) и сопровождается комбинированными иммунодефицитами с выраженными нарушениями функций Т-хелперов 1 типа, поливалентной аллергией и гранулоцитопатией. В разные периоды тяжелого и среднетяжелого течения АДД наблюдали 566 больных (412 детей и 154 взрослых). Из них от 0,5 до 3-х лет 112 больных (эритемы, отек, микровезикулы, IgE к пищевым аллергенам, повышение количества CD3⁺ и CD4⁺ лимфоцитов в 1,5 раза и ЦИК), до 7 лет – 233 ребенка (кожный зуд, эритематозные папулы с элементами гиперкератоза, пищевые, плесневые и бактериальные аллергены, снижение в 1,5 раза CD16⁺, повышение ЦИК в 3 раза, снижение IgA, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, ХЛ спонтанная и ХЛ стимулированная) и до 14 лет – 67 больных (лихенизация, шелушение и сухость кожи, поливалентная аллергия, снижение В и Т- лимфоцитов – CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, НК-клеток, показателей фагоцитоза в 1,5 раза). Непрерывность рецидивирующего течения АДД зависела от коэффициента отягощенности сопутствующими заболеваниями (от 2,3 до 4,7, иногда до 6,0-7,0), наличия стафилострептодермии (40-50%), наличия других хронических воспалительных заболеваний (68%) - гаймориты, фарингиты, риниты, трахеобронхиты, аденоидиты, дисбиоз кишечника, частые ОРВИ (74%) и фурункулез (25%), выраженности атопического синдрома, уровня нарушения иммунологических показателей и синтеза интерферона (ИФН)- α и - γ на фоне выявления грибов, хламидий, микоплазм и вирусов (герпес симплекс, цитомегаловирус (СМВ), вирус Эпштейна-Барр, Коксаки вирусы и др.).

Курсы стандартной базисной терапии дополняли иммунокорректором лейкинфероном для инъекций или в виде ингаляций через небулайзер в сочетании с мазевой его формой, свечей с лейкинфероном вместе с мазью, а в ряде случаев только в виде мази по 2-3 раза в день на пораженные участки кожи. Курс лечения от 2 недель до 3 месяцев по 1 ампуле 2-3 раза в неделю или по 1 ампуле ежедневно №10. Терапевтический эффект отмечался к концу первой недели, а коррекция иммунологических показателей наступала после 2 недель лечения. На фоне выраженного противовоспалительного эффекта достоверно изменялось или нормализовалось количество лейкоцитов, лимфоцитов, эозинофилов, IgA, IgM, IgE, отношение CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов и фагоцитарная функция нейтрофилов (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, ХЛ спонтанная и ХЛ стимулированная, показатели НСТ-теста, увеличение процента НСТ-положительных клеток при модуляции количества C3 и Fc γ положительных гранулоцитов). На фоне снижения общих IgE и специфических IgE к бактериям отмечено снижение уровней гистамина в крови при уменьшении соотношения содержания простагландинов PGF₂ α и PGE₂ (нг/мл) в крови и «кожном окне», а при нормальных концентрациях IgE содержание гистамина нормализовалось и соотношение содержания простагландинов было больше. Отмечалось корригирующее влияние лейкинферона (мазь + свечи) на продукцию ИЛ-10,12: в группах сравнения отмечена лишь тенденция к снижению уровня ИЛ-10, а в опытной группе с лейкинфероном получено достоверное снижение его концентрации; при высоких уровнях ИЛ-12 отмечено достоверное снижение концентрации цитокина в крови, а у больных со сниженным показателем концентрация ИЛ-12 полностью нормализовалась. Сниженная продукция ИФН- α и - γ при использовании лейкинферона в виде мази или мази со свечами с лейкинфероном достоверно возрастала и степень компенсации продукции ИФН- γ соответствовала эффективности лечения (нормализация содержания ИФН- γ при клиническом излечении). Высокий коэффициент эффективности (КЭ) лечения АДД, рассчитанный по формуле: $KЭ = SCORAD \text{ до лечения} / SCORAD \text{ после лечения}$ был получен и при использовании мази с лейкинфероном (3,2 и 2,8 для разных возрастных групп) и мази в сочетании со свечами с лейкинфероном (4,3 и 4,9). В дополнительно исследованной группе из 20 больных (+ 20 группа сравнения) только со средне-тяжелой формой процесса КЭ был еще больше и составил 9,1, а в группе сравнения 5,3, причем более чем у половины больных наблюдалось клиническое излечение. Включение в базисную терапию мази с лейкинфероном значительно снижало титры антител класса IgM к цитомегаловирусу и ВПГ1, а применение лейкинферона в виде мази и свечей спо-

способствовало прекращению образования антител класса IgM при перинатальных инфекциях (CMV, *S. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *H. simplex*, *M. pneumoniae*, *T.gondii*). Применение мази с лейкоинфероном и мази вместе со свечами позволило значительно снизить частоту высева *S.aureus* с кожи детей раннего возраста в период неполной ремиссии атопического дерматита. Если у детей младшего возраста в группе сравнения процент положительных высевов снизился с 84% только до 67%, то для групп с лейкоинфероном с 84% и 81% до 34% и 25% для больных со средне-тяжелой и тяжелой формой заболевания соответственно, а у детей школьного возраста при комбинированном применении мази со свечами с 40% до 25% и с 37% до 11% (в группе сравнения с 38% до 31%). Применение лейкоинферона в виде мази и в сочетании мази с ректальными свечами снижало уровень специфических IgE к *S.aureus* во всех группах (с 1,9 до 1,4). Длительность ремиссии АД у детей раннего возраста, получавших лейкоинферон, к 9 месяцам составила 43 и 50% при 14% в группе сравнения, где к 12 мес у всех больных наблюдались рецидивы тогда как в группе с лейкоинфероном в свечах и мази без рецидивов было 37% детей. У детей школьного возраста в группе сравнения к 9 мес у всех больных наблюдались рецидивы, а в группах с лейкоинфероном они отсутствовали у 40 и 43 процентов. Применение лейкоинферона вместе с курсом противомикробной терапии усиливало клинический эффект, сокращало сроки лечения и нормализовало продукцию ИФН- γ более чем у 50% больных, что сопровождалось развитием стабильной ремиссии.

У наиболее тяжелых больных максимальный эффект при наличии смешанных инфекций и снижении индуцированной продукции ИФН- α и - γ был отмечен при сочетанном применении короткими повторными курсами (по 4-8 инъекций) двух препаратов: интерферона- α (по 100 000-250 000 МЕ в/м) в чередовании с инъекциями лейкоинферона и местным нанесением мази. Нормализация иммунологических и клинических показателей, включая восстановление индуцированной продукции ИФН- α и - γ отмечали после 2-х недель лечения; при повторных значительно более легких обострениях не требовалось системного введения антибиотиков и длительного применения кортикостероидных средств и антигистаминных препаратов и было достаточно небольшого повторного курса лейкоинферона с интерфероном- α (3-5 введений) и местного применения мази с лейкоинфероном. Одновременно нормализовалось содержание в крови ИЛ-2 и ИЛ-4.

При непрерывно рецидивирующем тяжелом течении атопического дерматита у взрослых (от 16 до 38 лет) быстрый клинический эффект был получен при экстракорпоральных обработках лейкоцитов крови лейкоинфероном в сочетании с применением в/м инъекций лейкоинферона и интерферона- α в индивидуально подобранных дозах. Аутологичная лейкоцитарная взвесь, полученная из 250,0 – 500,0 мл крови в объеме 50-100 мл обрабатывалась раствором лейкоинферона из одной ампулы на протяжении 2-3 часов при $t=37^{\circ}\text{C}$. В этом случае достигалась максимальная концентрация комплекса цитокинов при минимальном содержании различных ингибиторных сывороточных факторов («растворимые рецепторы», цитокины, ингибирующие факторы для различных цитокинов и т.д.). В сочетании с последующим в/в введением лейкомассы и курсом в/м введения лейкоинферона позволяла значительно ускорить регресс клинической симптоматики и интенсифицировать иммунокоррекцию, а повторный курс с лейкоинфероном позволил добиться стабильной ремиссии до 18 мес.

Основным показателем достижения клинического излечения у больных с рецидивирующим течением распространенных форм АД следует считать нормализацию индуцированной продукции клетками крови ИФН- γ при компенсации хронических инфекций микробно-вирусной этиологии, что успешно достигается дополнением базисных схем лечения препаратами интерферона- α в сочетании с гемо- и иммунокоррекцией и комплексом противоаллергических мероприятий. Несмотря на выраженный клинический эффект компенсацию и нормализацию лабораторных показателей, у большинства больных АД остается выраженная аллергическая готовность и сохранение специфических IgE, что требует лабораторного мониторинга, клинического наблюдения, профи-

лактики острых респираторных вирусных инфекций и других иммунодепрессивных воздействий, способных спровоцировать обострение вторичных иммунодефицитов. Для этого необходимо с особой тщательностью проводить профилактику и лечение ОРВИ с использованием в комплексном лечении простого принципа в одном курсе: противовирусная химиотерапия + препараты интерферона- α + иммунокоррекция. Такой подход вместе с противоаллергическими и профилактическими мероприятиями (санация членов семьи, вакцинация, своевременная предупредительная иммунокоррекция и др.) обеспечивает увеличение межрецидивного периода. Важным показателем в этих случаях является индуцированная продукцией клетками крови ИФН- α и особенно ИФН- γ , позволяющая заблаговременно провести необходимую иммунокоррекцию и разорвать порочный круг у часто болеющего аллергика: преобладающая активность Т-хелперов 2 \rightarrow синтез IgE и снижение противоинфекционного иммунитета \rightarrow частые заболевания микробно-вирусной этиологии \rightarrow усиление вторичного иммунодефицита со снижением активности Т-хелперов 1 \rightarrow обострение аллергических и инфекционно-аллергических реакций. Компенсация хронических вирусных, микробных и паразитарных заболеваний одновременно с иммунокоррекцией позволяет разорвать порочные круги с нарастанием тяжести вторичных иммунодефицитов и добиться стабильной ремиссии АД.

ПОЛИРЕАКТИВНЫЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ: ИХ СВОЙСТВА И ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ

С.А. Бобровник

Институт биохимии им. А.В. Палладина, Киев, Украина

Нормальные антитела (н-АТ) – это АТ, которые продуцируются организмом в отсутствие намеренной антигенной стимуляции и которые присутствуют у новорожденных и безмикробных животных. В настоящее время полагают, что н-АТ играют важную роль, как первая линия защиты организма от инфекционных заболеваний. По-видимому, н-АТ играют решающую роль в захвате возбудителей инфекции вторичными лимфоидными органами, предотвращая их распространение.

Одним из свойств н-АТ есть их низкая аффинность (K_d , 10^{-4} to 10^{-7} М) к соответствующим антигенам по сравнению с АТ, индуцированными многократной иммунизацией (K_d , 10^{-7} to 10^{-11} М). К тому же н-АТ обладают более низкой специфичностью, чем «классические» АТ. Обычно н-АТ способны связываться с разнообразными, неродственными чужеродными и аутоантигенами. Из-за этих свойств их иногда называют полиреактивными АТ (Zhou et al., 2007).

Поскольку полиреактивные АТ могут взаимодействовать с аутоантигенами, резонно предположить, что значительная часть этих АТ в кровотоке может быть связана с собственными или чужеродными антигенами. Если да, то любая диссоциация иммунных комплексов должна вести к осязательному увеличению реактивности АТ.

Действительно, мы обнаружили, что инкубация сывороток человека и животных или сывороточных иммуноглобулинов (Igs) при условиях, вызывающих диссоциацию иммунных комплексов, сопровождается значительным усилением реактивности сывороток в отношении разнообразных антигенов (Бобровник, 1990, Бобровник и др., 1990). Позднее сходные данные были получены другими авторами (Bouvet et al., 2001). Нами было показано, что реактивность сывороточных IgM и IgG увеличивается в несколько раз после обработки сыворотки или Igs либо растворами хаотропных солей, либо после инкубации при низких/высоких pH. Полиреактивность иммуноглобулинов после обработки хаотропными солями сильно зависит от концентрации солей. Максимальная реактивность может быть достигнута после обработки сывороточных Igs оптимальными концентрациями KSCN или CCl_3COONa ; дальнейшее увеличение концентраций солей приводит к снижению реактивности, возможно, из-за инактивации Igs.

Подобные результаты были получены и после инкубации сывороток или сывороточных Igs при низких/высоких pH. Реактивность Igs крупного рогатого скота или кро-

лика была максимальной после обработки рН (1,8 or 12,5), но дальнейшее снижение или повышение рН вело к снижению реактивности Igs.

Поскольку нам не было известно, являются ли такие искусственно «активированные» Igs идентичны интактным н-АТ, с целью их дискриминации мы назвали «активированные» Igs полиреактивными иммуноглобулинами (ПРИГ).

Важно было выяснить, являлось ли наблюдаемое усиление неспецифической реактивности Igs результатом разблокирования многих клонов АТ, специфичных к этим антигенам, или это обусловлено появлением новых, неспецифичных АТ, одинаково хорошо связывающихся с разными неродственными антигенами. Дальнейшие исследования показали, что ПРИГ связывается с антигенами неспецифично, т. к.:

1) ПРИГ одинаково хорошо связывается с различными неродственными антигенами (А, В, С, D и т.д.).

2) Неродственные антигены (В, С, D) подавляют связывание ПРИГ с иммобилизованным антигеном А с такой же эффективностью, как и растворимый антиген А.

3) ПРИГ, элюированный с колонки иммобилизованным антигеном А, связывается не только с антигеном А, но также и с иными, неродственными антигенами (В, С, D и др.) примерно с той же эффективностью.

Возникает вопрос: Каков механизм наблюдаемого усиления реактивности сывороточных Igs? Можно предложить следующие ответы на данный вопрос:

1) Неспецифическая реактивность Igs возрастает из-за разблокирования естественных полиреактивных АТ, заблокированных в кровотоке аутоантигенами;

2) Нативные сывороточные Igs не обладают свойствами ПРИГ до обработки, однако приобретают эти свойства после упомянутой выше обработки Igs;

3) Оба механизма могут иметь место.

Для проверки идеи о возможном разблокировании Igs при обработке раствором KSCN мы попытались с помощью метода гель-хроматографии определить, диссоциирует ли какой-либо низкомолекулярный антиген (белок или полисахарид) с молекул очищенных Igs при их превращении в ПРИГ в результате обработки раствором KSCN. Поскольку нам не удалось обнаружить такого антигена, идея о заблокированных Igs оказалась нам сомнительной. Вместе с тем нами была обнаружена диссоциация липидов с молекула Igs после их обработки KSCN, однако не ясно, является ли эта диссоциация необходимой для трансформации Igs в ПРИГ.

С другой стороны, многие экспериментальные данные подтверждают предположение об изменении конформации Igs в процессе их превращения в ПРИГ:

1) Используя спектроскопический метод температурной пертурбации (позволяет определять конформационные изменения, оценивая экспозицию ароматических кислот на поверхности белка), мы установили, что экспозиция тирозина на поверхности Igs изменяется после инкубации Igs с раствором KSCN и трансформации Igs в ПРИГ.

2) Ещё одно подтверждение этого было получено с помощью изучения флуоресценции смеси 1-аминонафтален-8-сульфоната (ANS) и Igs или ПРИГ. Этот метод позволяет сделать вывод о конформационных изменениях белков, оценивая экспозицию гидрофобных участков на их поверхности, имеющих сродство к данному красителю. Связывание ANS белками приводит к сдвигу флуоресцентной эмиссии в коротковолновую область и к увеличению квантового выхода. Нами было установлено, что интенсивность флуоресценции смеси ПРИГ-ANS коррелирует с реактивностью ПРИГ в отношении антигенов. Полученные данные подтвердили идею о важности конформационных изменений Igs для их трансформации в ПРИГ. В результате был сделан вывод, что конверсия Igs в ПРИГ связана в основном с изменением конформации Igs, а не с их разблокированием.

Ещё одним аргументом в пользу вывода о том, что реактивность ПРИГ – это результат изменения конформации Igs, являются результаты исследования превращения в ПРИГ специфичных моноклональных АТ (мАТ). Нами было установлено, что большинство мАТ после их обработки KSCN или низкими/высокими рН теряют специфичность и

трансформируются в ПРИГ. Только 2 из 12 изученных нами мАТ были стабильными и не превращались в ПРИГ после их обработки KSCN. Это подтверждает, что усиление реактивности ПРИГ обусловлено в основном изменением конформации Igs.

Легко продемонстрировать, что Igs интактной сыворотки также обладают полиреактивными свойствами. Важным, однако, является вопрос относительно того, может ли повышение реактивности ПРИГ произойти не только *in vitro*, но и *in vivo*? Чтобы найти ответ на этот вопрос, мы попытались найти такие условия, которые не только могли бы вызвать трансформацию Igs–ПРИГ, но и могли бы встретиться *in vivo*. Возможным кандидатом, имеющим подобные характеристики, стали так называемые активные формы кислорода (ROS), продуцируемые активированными макрофагами *in vivo*. Источником ROS в наших первых опытах стала смесь H_2O_2 и лизат эритроцитов. Результаты этих опытов были чрезвычайно впечатляющие. Оказалось, что ROS не только могут трансформировать Igs в ПРИГ, но были намного эффективнее, чем KSCN или экстремальные pH. Эти данные показали, что трансформация Igs-PRIG с помощью ROS возможна *in vivo* по крайней мере в принципе. Отметим, что многие специфичные мАТ после обработки ROS теряют специфичность и превращаются в ПРИГ. Ещё один способ получения ROS основан на использовании смеси Fe_2SO_4 и EDTA. Используя этот подход, мы могли трансформировать сывороточные Igs или специфичные мАТ в ПРИГ.

В связи с этим рассмотрим ещё раз вопрос о механизме трансформации Igs в ПРИГ. Из литературы известно, что ROS способны индуцировать изменение структуры белков, однако полиненасыщенные липиды особенно чувствительны к ROS. В связи с этим следует вспомнить о том, что в процессе трансформации Igs-PRIG мы наблюдали диссоциацию некоторых липидов с Igs. Учитывая этот факт, можно было бы предположить, что удаление липидов из комплексов с Igs и трансформация Igs-PRIG – это взаимосвязанные процессы. Так ли это, предстоит установить в будущем.

Ещё один довод в пользу предположений о важности липидов в супрессии сывороточных ПРИГ: Обработка Igs раствором любого органического растворителя, «отмывающего» Igs от липидов, ведёт к заметному усилению активности ПРИГ. Однако поскольку органические растворители могут вызывать изменения конформации белков, этот аргумент не может считаться убедительным.

Произошедшие конформационные изменения в ПРИГ касаются, по-видимому, только Fab области, тогда как Fc участок остаётся неизменным (Бобровник и др., 2003), поскольку (1) АТ к Fc области связываются с ПРИГ; (2) ПРИГ эффективно опсонизируют микробные клетки и молекулярные антигены; (3) Белок А стафилококка присоединяется к Fc области ПРИГ; (4) ПРИГ связывают СЗ компонент комплемента.

А теперь рассмотрим, что нам известно о взаимодействии ПРИГ и антигенов.

Одним из неожиданных свойств ПРИГ является следующее: судя данным ELISA, ПРИГ эффективно связываются с разными бактериями (например, *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*, strain Wood 46), однако не агглютинируют их. Более того, даже высокие концентрации ПРИГ не способны предотвратить агглютинацию этих бактерий специфичными АТ. Мы объяснили этот феномен тем, что аффинность взаимодействия ПРИГ с бактериями очень низка и недостаточна для связывания бактериальных клеток, так или конкуренции с высоко аффинными специфичными АТ.

Действительно, позднее нами было показано, что аффинность связывания ПРИГ с некоторыми молекулярными антигенами (например, овальбумином) очень низка (около 4.0×10^{-5} М), тогда как аффинность нативных Igs была примерно такой же (6.0×10^{-5} М). Следовательно, трансформация Igs в PRIG не сопровождается повышением аффинности взаимодействия, а скорее в несколько раз увеличивается часть молекул Igs, обладающих полиреактивными свойствами.

В самом начале наших исследований было обнаружено (Бобровник, 1990), что взаимодействие ПРИГ с антигенами намного больше зависит от температуры, чем взаимодействие специфичных антител. Мы рассматривали этот факт как достаточно важный, т. к.

он хорошо согласуется с идеей о том, что подгонка структуры ПРИГ к структурам разных антигенов важна для их взаимодействия. Позднее мы провели исследования кинетики связывания ПРИГ с иммобилизованными антигенами при разных температурах и показали, что ПРИГ могут быть или в так называемом «активном», или в «неактивном» состоянии и между которыми устанавливается динамическое равновесие. Показано, что при оптимальных температурах (30-37 °С) часть ПРИГ в «активном» состоянии намного выше, чем при низких температурах (1-6 °С). Из-за этого скорость связывания ПРИГ с иммобилизованными антигенами намного выше при 30-37 °С.

Анализ зависимости констант скорости от температуры позволил определить термодинамические характеристики перехода между «активным» и «неактивным» состояниями ПРИГ. В общем, величины этих термодинамических характеристик хорошо согласуются с мнением о том, что антигенсвязывающий домен ПРИГ должен находиться в относительно гибком («полурасплавленном») состоянии чтобы быть способным связываться с разными неродственными антигенами (Bobrovnik, 1999).

Можно, предположить, что повышенная гибкость антигенсвязывающего кармана ПРИГ приводит к повышению вероятности того, что на поверхности молекулы экспонированы гидрофобные участки, которые в нативном состоянии спрятаны внутри молекулы. Исследование этого вопроса показало, что действительно, ПРИГ связывается в основном с гидрофобными эпитопами антигенов (Бобровник, 2001, 2002). Благодаря этому, можно значительно подавить ПРИГ-антиген взаимодействие с помощью реагентов, имеющих высокую аффинность к гидрофобным участкам белков (например, твин 20) и способных блокировать эти участки.

В настоящее время нет прямых доказательств того, что циркулирующие Igs могут превращаться в ПРИГ *in vivo*, однако имеются данные, свидетельствующие, что в принципе этот процесс может происходить и если да, то в этом случае он может играть важную роль. Можно предположить, что:

1) Поскольку активированные макрофаги могут секретировать H_2O_2 и лизировать эритроциты, то локально могут быть созданы условия для Igs-PRIG конверсии *in vivo*.

2) Согласно нашим данным, трансформация Igs в PRIG может быть индуцирована металлами переменной валентности. Поскольку такие ионы имеются в достатке в организмах и при некоторых условиях они могут контактировать с Igs, то нельзя исключить, что конверсия Igs в PRIG может произойти *in vivo*.

3) При некоторых клинических ситуациях образование ROS в организме – обычное явление, например, при ишемии/реперфузии тканей. Учитывая, что ROS являются мощными индукторами Igs-PRIG трансформации, можно предположить, что такой процесс может происходить *in vivo*.

Интересные опыты были выполнены Carroll et al. (1998), которые изучили повреждения, вызванные ишемией/реперфузией у мышей, дефицитных или по компонентам комплекса C3 или C4, или мышей, дефицитных по сывороточных Igs. Все эти мыши были защищены от повреждений, вызванных ишемией/реперфузией. Протекция мышей, дефицитных по сывороточных Igs, можно было устранить, инъекцируя сыворотку нормальных мышей. Авторы объяснили эти результаты тем, что в результате ишемии/реперфузии появляются новые антигенные детерминанты, с которыми связываются нормальные антитела и это приводит к повреждению ткани.

Мы выполнили подобные эксперименты и также обнаружили, что ишемия/реперфузия задней конечности мыши приводит к связыванию циркулирующих IgM и IgG стенками кровеносных сосудов. Наше объяснение этих результатов следующее. Ишемия/реперфузия ткани приводит к образованию ROS, которые изменяют не только антигены кровеносных сосудов, но и превращают Igs в PRIG, а те, в свою очередь, связываются со стенками кровеносных сосудов (Бобровник, 2002).

Чтобы подтвердить наше предположение, мы показали, что внутривенное введение мышам биотинилированных МАТ, специфичных к овальбумину и последующее введение

или 0.1 мл 40% этанола, или смеси FeSO₄-EDTA приводит к связыванию этих мАТ кровеносными сосудами скелетной мышцы. Это связывание легко обнаружить с помощью гистохимического анализа. Таким образом, эти результаты указывают на то, что при некоторых условиях циркулирующие специфичные АТ могут превращаться в ПРИГ, которые связываются с кровеносными сосудами. В связи с этим возникает вопрос об участии ПРИГ в повреждении сосудов и развитии атеросклероза.

Какие же ещё эффекты могут индуцировать ПРИГ *in vivo*?

1) Как уже упоминалось, ПРИГ способны эффективно опсонизировать бактериальные клетки и молекулярные антигены. В результате этого скорость поглощения опсонизированных антигенов перитонеальными макрофагами возрастает в несколько раз.

2) У мышей ПРИГ могут усиливать образование АТ к низко иммуногенным антигенам. Уровень АТ к очищенному деривату туберкулина (ППД) в сыворотках мышей, иммунизированных смесью ПРИГ-ППД, был в три раза выше, чем у мышей, иммунизированных той же дозой ППД. Количество АТ-синтезирующих клеток в селезёнках мышей, иммунизированных смесью ПРИГ-ППД, в десять раз превышало этот показатель животных, иммунизированных только ППД. Эти данные согласуются с точкой зрения, что ПРИГ может играть определённую роль в защите от инфекций. В тоже время мы не смогли выявить влияния ПРИГ на образование АТ к высоко иммуногенным антигенам, таким как эритроциты барана или бактерии *Staphylococcus aureus*, штамм Wood 46.

3) Наши попытки исследовать способность ПРИГ усиливать противоопухолевый иммунитет дала неожиданные результаты. Оказалось, введение ПРИГ мышам, которым впоследствии ввели клетки карциномы Эрлиха, приводит к заметному усилению опухолевого роста. Ещё более выраженный эффект был получен, если ПРИГ вводили мышам после инъекции клеток карциномы или если клетки карциномы перед их введением инкубировали с ПРИГ (30 мин при 37°C). Это свидетельствует, что в некоторых случаях повышенный уровень ПРИГ может иметь нежелательные последствия.

Учитывая всё вышеизложенное, можно сделать вывод, что ПРИГ, по-видимому, играют определённую роль в защите организма от инфекций, однако в некоторых ситуациях их чрезмерно высокая концентрация может быть опасной для организма. Если так, то исследованию свойств и биологических функций ПРИГ следует уделять значительно больше внимания.

Литература.

1. Zhou Z-H., et al., *Cell Host Microbe*, 2007, **1**, 51–61.
2. Бобровник С.А. Укр. биохим. журн., 1990, **62**, №5, 86-89.
3. Bouvet J.P., et al., *Autoimmun.* 2001, **2**, 163-172.
4. Бобровник С.А., Лященко К.П., Комиссаренко С.В. Докл.АН УРСР, 1990,6,71-74.
5. Бобровник С.А., и др., Укр.биохим. журн., 2003, **75**, №3, 104-108.
6. Bobrovnik S.A. *Comments Molec. & Cellular Biophys.*, 1999, **9**, 323-356.
7. Бобровник С.А. Укр. биохим. журн., 2001, **73**, №2, 116-122.
8. Бобровник С.А. Укр. биохим. журн., 2002, **74**, №2, 26-33.

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ У МАТЕРЕЙ С БЕРЕМЕННОСТЬЮ, ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ И ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Васильева З.В., Тягунова А.В., Дрожжева В.В., Конькова Т.А., Симонова А.В.

Государственная Классическая Академия им. Маймонида, ГОУ ВПО Российский Государственный Медицинский университет, ГУ НИИ урологии, Медицинский исследовательский центр «Иммункулус», Родильный дом при ГКБ №20 (Москва, Россия)

Гестоз остается важнейшей проблемой акушерства, занимающей 2-3 место в структуре материнской смертности и приводящей к повышенной перинатальной заболеваемости и смертности. Клиника гестоза в значительной мере обусловлена несоответствием в иммунных взаимоотношениях матери и плода. Развитие иммунного конфликта связано со снижением толерантности матери к антигенам плода, возникающим при извращенном иммунном ответе, ведущем к повреждению почек (по мере нарастания тяже-

сти гестоза, происходит прогрессирующие ухудшения функций почек) и поражению сосудистой стенки, следствием чего являлась гипоксия органов и тканей. Одним из основных инструментов, посредством которого иммунная система участвует в контроле за антигенно-молекулярным гомеостазом, являются антитела (АТ), связывающие молекулы ксенобиотиков и ауто-АТ, взаимодействующие с молекулами собственного организма. В норме соотношения ауто-АТ и собственных антигенов гармонично сбалансировано, но при развитии патологии этот баланс нарушается. Количество определенных ауто-АТ увеличивается или уменьшается, причем при разной патологии формируются свои характерные изменения. Таким образом, иммунная система через содержание тех или иных видов ауто-АТ отражает состояние органа.

Целью нашей работы являлось изучение связи между содержанием ряда ауто-АТ и нарушениями функций почек при поздних гестозах.

Пациенты. Под наблюдением находились 41 беременных женщины (возраст от 17 до 39 лет), проходившие лечение в роддоме ГКБ №20 г.Москвы. Две пациентки поступили в клинику после приступов эклампсии, у тридцати был поставлен диагноз преэклампсия, у девяти – гестоз-3. Использовалась классификация гестозов, предложенная Российской ассоциацией акушеров-гинекологов. Сроки беременности составляли 24 - 30 недель (n = 15), у девятнадцати- 31 - 35 нед. (n = 19), 36 - 39 нед. (n = 6). У 23 пациенток данная беременность была первой, у 11 в анамнезе были искусственные аборт, причем у 3 пациенток аборт были произведены по поводу замершей беременности; 5 пациентам предстояли вторые роды, 2 – третьи. Течение предыдущей беременности у 4 женщин осложнилось тяжелой формой гестоза. У 2 отмечались высокие цифры АД (200/100 мм.рт.ст.), по поводу чего было произведено прерывание беременности по медицинским показаниям. У 34 пациенток была выявлена экстрагенитальная патология – хронический пиелонефрит (n = 18), мочекаменная болезнь (n = 6), артериальная гипертония (n = 6), латентная форма гломерулонефрита (n = 4). У одной пациентки, страдающей хроническим пиелонефритом и мочекаменной болезнью, во время настоящей беременности произведена нефростомия левой почки в связи с обострением пиелонефрита и нарушением оттока мочи.

Исходы беременности: своевременные оперативные роды (n = 18), преждевременные оперативные роды (n = 14), самопроизвольные роды (n = 5), в четырех случаях производилось прерывание беременности по медицинским показаниям путем операции малого кесарева сечения. Показанием к операции кесарева сечения служила тяжесть гестоза (состояние после приступов эклампсии, преэклампсия), а также наличие рубца на матке, аномалии родовой деятельности, двойня и тазовое предлежание первого плода.

Средняя масса детей, рожденных от матерей с тяжелыми формами гестоза, составило 2684 ± 116 г. Пять новорожденных, матери которых страдали тяжелой формой гестоза, умерли в ближайшие часы и сутки после кесарева сечения в связи с недоношенностью, незрелостью, внутриутробной гипоксией плода, синдромом задержки развития плода. Две родильницы были переведены в нефрологическое отделение в связи с развитием почечной недостаточности.

С помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс оценивали содержание ауто-АТ к хорионическому гонадотропину (ХГЧ), к дс-ДНК, идиотипических (АТ1) и антиидиотипических (АТ2) ауто-АТ к β 2-гликопротеину, к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (ревматоидный фактор), к коллагену, к белку S100, к белку МР-65. С помощью метода ЭЛИ-Нефро-Тест оценивали содержание ауто-АТ к мембранным (KiM-05-300, KiM-05-40) и цитоплазматическим (KiS-07-120) белкам почечной ткани. Определения ауто-АТ проводили в образцах сыворотки беременных и в пуповинной крови.

На фоне выявленных признаков нарушения функции почек, как правило, отмечалось повышение ауто-АТ к коллагену. У половины пациенток были выявлены признаки воспалительного процесса, определяемого по повышенному уровню ауто-АТ к дс-ДНК (повышение апоптоза) и ревматоидному фактору. В 68% случаев было обнаружено по-

вреждение тканей почек, определяемого повышением уровня антител ко всем 3 исследованным антигенам почечной ткани от 1,5 до 3,5 раз. У части беременных в сроки 27-39 недель, имелась тенденция к снижению уровня определявшихся ауто-АТ ниже физиологических значений, что свидетельствовало об умеренно выраженной иммуносупрессии. У 8 новорожденных, рожденных от матерей страдающих поздним гестозом на фоне хронического пиелонефрита, было отмечено повышение уровня ауто-АТ к белку почек KiS-07-120 более чем в 1,5 раза.

Выводы. У новорожденных, рожденных от матерей страдающих пиелонефритом, нередко выявляются иммунохимические маркеры патологии почек, позволяющие отнести их к группе риска развития клинически выраженной патологии. Изменения в состоянии аутоиммунитета свидетельствуют о необходимости введения в тактику лечения беременных с сочетанными формами позднего гестоза дополнительных мер, направленных на коррекцию иммунных нарушений.

ПОКАЗАТЕЛИ АУТОИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С Т- И В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФАТИЧЕСКИМИ ОПУХОЛЯМИ.

Ю.Е.Виноградова*, **И.В.Леках****, **Е.Ю.Варламова***, **А.П.Шинкаркина****,
И.А.Замулаева**, **Е. И. Селиванова****, **А.С.Саенко****

**ГУ Гематологический научный центр, Москва; **ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск, Россия*

Установлено, что в плазме крови здоровых людей и животных присутствуют естественные аутоантитела (а-АТ), классов IgG, IgM и IgA, направленные к собственным антигенам (АГ), в основном к эволюционно консервативным АГ (ДНК, фосфолипиды, гистоны, белки цитоскелета и др.) и часто проявляющие свойства полиспецифичности. Изменения в содержании а-АТ при опухолевых процессах, начали изучать лишь в последние годы. Соотношения разных классов а-АТ, их динамики после лечения, в том числе после цитостатической химиотерапии, до настоящего времени не исследовали. Проведенные нами исследования циркулирующих а-АТ у больных с лимфомами, лейкозами, аутоиммунной гемолитической анемией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и др., позволили выявить нозологии, для которых характерны значительные отклонения от показателей здоровых лиц [Леках И.В. и др., 2004].

Целью работы было изучение уровня активности свободно циркулирующих и скрытых а-АТ (IgG и IgM) к ДНК, микросомальному АГ щитовидной железы (МА) и кардиолипину (КЛП) в группах больных Т- и В-клеточными лимфомами до- и после их лечения цитостатиками (СНОР-подобные курсы, FMS и др.).

Материалы и методы. Исследования проводили у 120 больных. У 48 из них были выявлены Т-клеточные лимфатические опухоли (23 мужчины и 25 женщин в возрасте от 17 до 89 лет). У 72 больных определялись В-клеточные опухолевые заболевания (34 мужчины и 38 женщин в возрасте от 19 до 77 лет). Среди последних наблюдалось 30 больных с В-клеточными лимфомами и 42 больных с В-клеточным хроническим лимфолейкозом. Постановка диагноза проводилась в соответствии с классификацией ВОЗ 2001 и диагноз подтверждался с помощью клинических, инструментальных, гистологических, цитологических, иммунохимических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических исследований. Концентрацию IgG, IgM и IgA определяли по Манчини. Активность а-АТ к ДНК, МА и КЛП определяли с помощью ИФА. Для выявления активности скрытых а-АТ, пробы сыворотки крови предварительно обрабатывали ацетатным буфером (рН 4,5), инкубировали 18 час при 8⁰ С и перед иммуноферментным анализом (ИФА) нейтрализовали фосфатным буфером [Lekakh, Poverenny, 1997]. Группа контроля состояла из 132 доноров в возрасте от 20 до 70 лет, разделенных на группы по возрасту (с шагом 10 лет). Фенотипирование опухолевых лимфоцитов проводили с помощью проточной цитофлуориметрии, используя комбинации АТ к поверхностным маркерам:

CD45/CD14, CD2/CD3, CD4/CD8 CD3/CD5, CD7/CD3 CD19/CD5, CD3/CD16,56, CD45/CD23, CD19/CD5, CD10/CD3, κ/λ CD20, CD22.

Результаты. В группе больных с Т-клеточными опухолями были выявлены заметные сдвиги изучавшихся параметров. Наиболее выраженные изменения отмечались у больных с Т-клеточными лимфомами с фенотипом CD8⁺. У большинства таких больных (76%) было выявлено повышение свободно циркулирующих а-АТ IgG класса к ДНК, причем у 29% больных уровень иммунореактивности более чем в 3 раза превышал нормальные значения. Средние уровни свободно циркулирующих анти-ДНК, анти-МА и анти-КЛП а-АТ класса IgG превышали показатели здоровых лиц. Уровень скрытых (выявляемых только при кислотной обработке) анти-ДНК а-АТ класса IgG был повышен у 38% больных. При исследовании а-АТ до лечения в группе с Т-клеточными лимфомами, экспрессирующими маркер CD4 у 70% больных было обнаружен рост в 1,5-2 раза свободно циркулирующих анти-ДНК АТ класса IgG, а более чем 2-кратное превышение нормативных уровней таких АТ было обнаружено у 18% больных. Средние уровни АТ класса IgG к ДНК, МА и КЛП у них значимо превышали норму. После лечения цитостатиками у больных с Т-клеточными опухолями уровень большинства свободно циркулирующих ауто-АТ снижался до нормы (кроме показателей анти-КЛП а-АТ класса IgG). Средние уровни скрытых а-АТ всех классов также снижались после лечения (в 1,5-3 раза к исходному). Повышение уровня а-АТ у больных с Т-клеточными опухолями одновременно к 2 АГ наблюдалось у 36% больных (чаще а-АТ к ДНК и КЛП). У части больных отмечалось повышение а-АТ ко всем трем АГ. Уровни АТ класса IgM у пациентов и здоровых не различались. В группе больных Т-клеточными опухолями отмечалось увеличение среднего уровня поликлональных IgM и содержания ЦИК (у 38% - особенно высокий уровень IgM). Повышенный уровень IgG и IgA отмечен у 29% больных. У больных В-клеточными лимфомами и В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ) была выявлена тенденция к умеренному повышению анти-ДНК класса IgG в обеих группах. Других отличий уровней АТ обоих классов и влияния на него цитостатического лечения выявлено не было. Это касалось свободно циркулирующих и скрытых АТ. Частота случаев повышенного уровня а-АТ в этих группах незначительно отличалась от нормы до- и после лечения. Не было выявлено связи между содержанием CD5⁺ лимфоцитов и уровнем а-АТ у больных В-ХЛЛ с наличием патологического клона с фенотипом CD45^{low}CD23⁺CD19⁺CD5⁺. Для больных с В-ХЛЛ, с повышением уровней свободно циркулирующих анти-ДНК АТ, были характерны выраженные аутоиммунные процессы, в основном типа гемолитической анемии (36%).

Заключение. Значительная часть больных с Т-клеточными опухолями характеризуется гипергаммаглобулинемией, касающейся всех классов иммуноглобулинов, повышением уровня ЦИК, выработкой повышенного количества свободно циркулирующих а-АТ класса IgG к ДНК, МА и КЛП. Наиболее высокие уровни свободно циркулирующих а-АТ к ДНК отмечены среди больных с Т-клеточными лимфомами фенотипа CD8⁺. Под влиянием химиотерапии, повышенный уровень свободно циркулирующих АТ к ДНК, МА и КЛП снижался до нормальных значений. Снижался и уровень скрытых а-АТ, что может свидетельствовать о нарушении синтеза антиидиотипических АТ, вызванных цитостатической терапией. При В-клеточных опухолях выявлена тенденция к гипогаммаглобулинемии и отсутствию повышения исследованных АТ; прямой корреляции между концентрацией IgG, IgA, IgM в сыворотке крови и содержанием исследованных АТ соответствующих классов обнаружено не было.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТИМОДЕПРЕССИНА У БОЛЬНЫХ С ИММУННЫМИ ЦИТОПЕНИЯМИ

Виноградова Ю.Е.¹, Замулаева И.А.², Селиванова Е.И.², Дейгин В.И.³, Саенко А.С.²

1 Гематологический научный центр РАМН, Москва, Россия; 2 Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск, Россия; 3 Центр "Петтос", Москва

К иммуностимуляторам относят ряд интерлейкинов, ростовые факторы, иммуно- и гемостимулирующие пептиды. Для иммуносупрессии используются главным образом стероидные гормоны, циклоспорин, цитостатики, антитимоцитарный глобулин, антитела против рецепторов лимфоцитов и др. Значительные трудности в лечении тяжелых аутоагрессивных заболеваний связаны с тем, что применяемые препараты дают много осложнений. Исключением является новый препарат тимодепрессин (ТД). ТД – это синтетический дипептид из правовращающих аминокислот (триптофана и глютаминовой кислоты) соединенных гамма-пептидной связью в последовательности γ -D-Glu-D-Trp. ТД снижает колониюобразование в селезенке мышей и количество лимфоцитов в периферической крови. ТД обладает способностью снижать процент клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла. Препарат разрешен для применения.

Материалы и методы. Мы наблюдали 53 пациента (17 мужчин и 36 женщин; 18-78 лет), в том числе 10 больных с аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА), 34 - с аутоиммунной тромбоцитопенией (тромбоцитопенической пурпурой; ТП) и 9 - с двух-трехростковыми цитопениями. Определения активации и дифференциации лимфоцитов проводили с помощью проточной цитофлуориметрии. Анализ проводили по 4-м параметрам: интенсивность прямого и бокового светорассеяния, флуоресценции ФИТЦ и ФЭ. Использовали комбинации антител к CD45/CD14, CD4/CD8, CD3/CD25, CD3/HLA-DR, CD3/CD69, CD3/CD16,56, CD95 и CD34.

Протокол лечения. Рекомендуемая доза ТД -10 мкг/кг/сут. Препарат вводят в/м или п/к по 1,0-2,0 мл 0.1% раствора, ежедневно в течение 5-7 дней. Перерыв между курсами 5-14 дней. Интраназально препарат вводят один раз в сутки по 1 мл 0.1% раствора, 5-7 дней. Перерыв между курсами 5-14 дней.

Результаты. Применение ТД в качестве монотерапии у больных с иммунными цитопениями с тяжелым рецидивирующим течением сопровождалось повышением содержания гемоглобина и эритроцитов при АИГА и повышении содержания тромбоцитов при ТП. Эффекты были сопоставимы с достигавшимися при использовании стандартных методов лечения (стероиды и цитостатики). [Виноградова Ю.Е. и др., 2002]. В тяжелых случаях дозы увеличивали, а срок перерыва сокращали (Макс. дозы были 5-кратные, при сокращении перерыва до 6-7 дней). Побочных реакций у больных не наблюдалось, отклонений биохимических показателей (кроме связанных с болезнью) не было. Полная компенсация, сохранявшаяся после отмены ТД, отмечена у 33% больных (преимущественно с односторонними иммунными цитопениями). У 19% эффект сохранялся при использовании поддерживающей терапии, но при ее отмене наблюдалась тенденция к снижению гематологических показателей. У 24% больных наблюдался 50% эффект на фоне применения ТД, при отмене показатели ухудшались. В 24 % случаев эффект отсутствовал (в основном, больные, у которых был не эффективен преднизолон, а у отдельных больных и циклоспорин). Непосредственно после курса абсолютное количество лимфоцитов имело тенденцию к кратковременному снижению. Абсолютные показатели основных субпопуляций Т-лимфоцитов также снижались на 15-20%. Еще более заметно снижалось количество активированных Т-лимфоцитов (маркер CD69⁺ - до 43% к исходному). Снижались популяции клеток с маркерами CD25⁺ и CD8⁺. Спустя 1-2 недели содержание лимфоцитов возвращалось к исходному.

Заключение. Положительные эффекты лечения аутоиммунных цитопений с помощью ТД, оказались сопоставимы с показателями, которые достигались у этих же больных при стандартных схемах лечения стероидными гормонами и цитостатическими иммунодепрессантами. Эти данные могут быть использованы для разработки схем лечения больных с другими аутоиммунными заболеваниями. К настоящему времени получены первые положительные результаты использования ТД в лечении псориаза и атопических дерматитов. Возможно применение ТД в трансплантологии. Динамика субпопуляций лимфоцитов и их активации у больных псориазом, оказалась сходной с наблюдаемой при иммунных цитопениях.

ЭФФЕКТЫ АНТИТЕЛ К СА-СВЯЗЫВАЮЩЕМУ БЕЛКУ S100 НА МЕМБРАННЫЕ СТРУКТУРЫ КОМАНДНЫХ И МОТОНЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ

Гайнутдинов Х.Л.

Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН, Казань, Россия

Ca^{2+} является универсальным вторичным мессенджером. Он необходим для жизни клеток, в то же время длительное повышение его внутриклеточной концентрации приводит к гибели клеток. Ca^{2+} не подвергается метаболическим превращениям, как другие посредники, поэтому его внутриклеточная концентрация должна жестко регулироваться системами белков, способными удерживать Ca^{2+} в связанном состоянии или транспортировать его из клетки, таких как парвальбумин, кальмодулин, тропонин-С, кальретицин [1]. Одним из таких Ca^{2+} -связывающих белков является S100. Способность внутриклеточной среды связывать ионы Ca^{2+} определяется наличием в ней эффективных буферных систем. Они состоят главным образом из Ca^{2+} -связывающих белков, Белки S100 имеют относительно небольшую молекулярную массу и характеризуются наличием Ca^{2+} -связывающих доменов [2]. Интерес к этому семейству белков определяют такие их качества как мозгоспецифичность ряда из них, эволюционная стабильность [3], участие в регуляции межклеточных коммуникаций, клеточного роста, подвижности, энергетического обмена, транскрипции [4]. Повышение аутоантител к S100 характерно для больных шизофренией, эпилепсией, рассеянным склерозом [5]. Показано, что S100B является маркером мозговых нарушений [6]. Многие белки S100 способны обеспечивать проведение Ca^{2+} -опосредованного сигнала внутри клетки (действуя в различных внутриклеточных структурах) и внеклеточно (секретируются) [8]. Так, белок S100B, секретируемый глиальными клетками, способен стимулировать рост нейритов в процессе развития и повышать выживаемость нейронов после их повреждения. Кроме того, S100B предотвращает дегенерацию моторных нейронов у новорожденных крыс после повреждения нерва, а его локальное введение, стимулирует регенерацию поврежденного нерва *in vivo*. Эти наблюдения подтверждают физиологическую роль секретируемого S100B как нейротрофического фактора, действующего в наномолярном (10^{-9}) диапазоне [3]. Антитела к S100 (AS100) меняют электрические характеристики нейрональной мембраны - снижают амплитуду потенциала действия, что сопровождалось деполяризацией мембраны, и нарушением функций Ca^{2+} -каналов [9, 10]. Кроме того, AS100 блокируют посттетаническую потенциацию в срезах гиппокампа [11, 12, 13]. Наконец, показано, что белок S100 принимает участие в механизмах обучения и памяти у животных, а AS100 нарушают эти процессы [9].

Задачей настоящего исследования явился анализ механизмов мембранных влияния антител к белку S100. Для исследования использовали моноспецифическую антисыворотку к S100 (Свиридов С.М., Институт цитологии и генетики СО РАН), разведенную физиологическим раствором в соотношении 1:5.

В первой серии экспериментов на мотонейронах виноградной улитки было найдено два типа нейронов висцерального и правого париетального ганглиев, различно реагирующих на аппликацию AS100. В спонтанно активных клетках В1, В3, В17 и ППа6 (по Д.А.Сахарову) под влиянием AS100 снижалась частота генерации ПД, а в клетках В4, В6, В11 и ряде других, наоборот, происходило увеличение частоты. Достоверных изменений мембранного потенциала покоя и порога генерации ПД в обеих группах клеток не обнаружено. Во второй серия экспериментов сравнивали эффекты AS100 и хинина. На клетках V4 и V6 было найдено, что частота генерации ПД этих нейронов при добавлении раствора хинина снижалась более чем в 2 раза, а продолжительность ПД увеличивалась в 6 раз. При совместном действии AS100 и хинина частота генерации ПД, мембранный и пороговый потенциалы достоверно не изменялись по сравнению с эффектом AS100 в физиологическом растворе. Длительность ПД увеличивалась в 1.6 раза (менее выражено по сравнению с действием хинина). Т.е. AS100 препятствовала увеличению продолжительности ПД после аппликации хинина. В третьей серии был проведен

анализ действия AS100 на командные нейроны оборонительного поведения. Было обнаружено, что аппликации AS100 вызывают деполяризацию мембраны нейронов интактных улиток (с $-59,1 \pm 1,3$ мВ до $-42,6 \pm 4,4$ мВ). У обученных улиток это смещение было меньше: $-55,3 \pm 0,7$ мВ в физ. растворе и $-48,4 \pm 2,1$ мВ после аппликации AS100. Порог генерации ПД и его продолжительность достоверно не изменялись.

Полученные результаты свидетельствуют об участии белка S100 в функционировании мембранных структур. Разнонаправленное влияние антител к этому белку на разные типы клеток показывает, что эффекты зависят от функциональной роли тех элементов мембран, к которым адресовано действие антител. Один из путей влияния белков S100 на функции мембран – модуляция функций Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов [8]. Это хорошо согласуется с представлениями о том, что одной из основных функций белков семейства S100 заключается в трансдукции внеклеточного сигнала во внутриклеточный [3]. Они осуществляют модуляцию значительного количества внутриклеточных процессов через связывание EF-доменами Ca^{2+} -зависимым способом [4]. Наши результаты подчеркивают прямое действие AS100 на систему регуляции Ca^{2+} ионами Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов. Исходя из структуры этих каналов, можно ожидать, что белок S100 локализован трансмембранно или вплотную примыкает к внутренней стороне мембраны [15], участвуя таким способом в регуляции функций Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов.

Установлена роль S100 в механизмах синаптической пластичности, функционировании пре- и постсинаптических структур, прежде всего в силу тех же Ca^{2+} -связывающих свойств [3, 9, 11, 12]. Ионы кальция играют роль «стабилизатора» клеточной мембраны и S100 может влиять на эти функции. Представляется, что именно эти свойства белков S100 определяют полифункциональность и механизм осуществления ими физиологических функций.

В выполнении данного исследования принимали участие Андрианов В.В., Гайнутдинова Т.Х. и Силантьева Д.И. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 07-04-00224).

REFERENCES

1. Brini M., Carafoli E. Cell. Mol. Life. Sci. 2000. 57:354-370.
2. Santamaria-Kisiel L., Rintala-Dempsey A.C., Shaw, G.S. Biochem. J. 2006. 396(2):201-214.
3. Donato R. Microsc. Res. Tech. 2003. 60:540-551.
4. Zimmer D.B., Wright Sadosky P., Weber D.J. Microsc. Res. Tech. 2003. 60(6):552-559.
5. Полегаев А.Б., Шерстнев В.В. Усп. совр. биол. 1987. 103(1):124-132.
6. Pelinka L.E., et al., Brit. J. Anaesth. 2003. 91(4):595-597.
7. Mecocci P., et al., Neuroimmunol. 1995. 57(1-2) :165-170.
8. Kubista H., Donato R., Hermann A. Neurosci. 1999. 90:493-508.
9. Shtark M.B., et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 1987. 496:405-415.
10. Jankovic B.D. Intern. Rev. Neurobiol. 1985. 26:249-314.
11. Lewis D., Teyler T.J. Brain Res. 1986. 383:159-164.
12. Rebaudo R., et al., Neurochem Res. 2000. 25:541-545.
13. Epstein O.I., et al., Front. Biosci. 2003. 8:a79-84.
14. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб.: Изд-во С.Петербург. Ун-та, 2003. 208 с.
15. Kubista H., Kerschbaum H.H., Hermann A. Brain Res. 1996. 716(1-2):53-58.

АУТОАНТИТЕЛА К ФАКТОРАМ-РЕГУЛЯТОРАМ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ГИБЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ, НЕРВНЫХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК БИОМАРКЕРЫ И ПРЕДИКТОРЫ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Грудень М.А. Шерстнев В.В.

ГУ НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН

Цереброваскулярные заболевания – одна из ведущих причин заболеваемости, смертности и инвалидизации в России и других странах. В последние годы в общей структуре цереброваскулярной патологии наблюдается рост удельного веса хронических форм нарушений мозгового кровообращения и, в первую очередь, дисциркуляторной

энцефалопатии (ДЭ) – прогрессирующей недостаточности кровоснабжения мозга, приводящей к множественным мелкоочаговым некрозам нервной ткани и проявляющейся прогрессирующими нарушениями функции нервной системы, ограничивающими интеллектуальные и физические возможности человека и ухудшающими качество жизни. Считают, что основным патогенетическим механизмом ДЭ является хроническая ишемизация мозга вследствие сосудистых патологических процессов. Проградиентное ишемическое повреждение мозга лежит в основе его старения и формирования сосудистой деменции. Современные представления подчеркивают ключевую роль аутоиммунных реакций при ишемии мозга, особенно к нейроспецифическим антигенам наряду с нарушениями микроциркуляции и клеточных процессов в нервной ткани сопряженных с недостаточностью трофического обеспечения. Кроме того, принципиальное значение в регуляции клеточного гомеостаза при ишемии нервной ткани отводится процессам программированной клеточной гибели (апоптоза). Этот аспект является стратегически важным в разработке новых эффективных средств и методов диагностики и лечения ишемической болезни мозга. Имеются убедительные данные об участии в патогенезе прогрессирующих цереброваскулярных заболеваний антител к факторам-регуляторам роста, выживаемости и гибели эндотелиальных, нервных и глиальных клеток, в частности, к белку S100b и белку HLDF.

Проведено комплексное клинико-инструментальное обследование 190 пациентов (64% женщин и 46% мужчин) с ДЭ различной степени тяжести (ДЭ I ст., n=45, ДЭ II ст., n=48, ДЭ III ст., n= 40), а также с начальными проявлениями нарушений мозгового кровообращения (НПРНК, n=31) и здоровых людей («возрастная норма», n=26). Средний возраст пациентов - 63,2 года. У всех пациентов проведено изучение клинической картины заболевания с учетом данных анамнеза и соматического статуса. Двигательная активность оценивалась по тесту «Оценки Клуба моторики», шкале Рэнкина, шкале Гиннетти, состояние эмоционально-волевой сферы, по шкале тревоги Спилбергера, психический статус определялся по краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) и батарее тестов для оценки лобной дисфункции (FAB). Характер и выраженность повреждения головного мозга определяли по КТ и МРТ. Магистральные артерии головы исследовали цветовым дуплексным сканированием, а интракраниальные артерии – транскраниальной ультразвуковой доплерографией, проводили обследование сердечно-сосудистой системы, включавшее ЭКГ, ЭхоКГ, суточное мониторирование артериального давления, а также общеклинические анализы мочи и крови, биохимические критерии функциональной активности печени и почек, исследовали гемореологические показатели. В день госпитализации в образцах сыворотки крови пациентов методом твердофазного ИФА с использованием авторских оригинальных тест-систем определяли уровни первичных (АТ) и вторичных антител (а-АТ) к S100b, пептиду HLDF24 сохраняющего биологическую активность белка предшественника HLDF (Human leukemia differentiation factor). Проведена оценка влияния препарата «нейромедин» на состояние когнитивных функций у больных с ДЭ I и ДЭ II (n=24), 14 женщин и 10 мужчин в возрасте 70,4±5,1 и 69, 1±6,3 лет. Установлено достоверное изменение показателей когнитивного дефицита, а также значимые изменения содержания белков и АТ после проведенного курса лечения препаратом. С помощью статистических методов (корреляционный, регрессионный, и одновариантный анализ) осуществлены обработка результатов обследования и сравнительный анализ клинических и иммунобиохимических показателей (89 показателей) у пациентов всех обследованных групп. Выявлены значения уровней первичных и вторичных АТ к ним, достоверно отражающие и/или предопределяющие, состояние когнитивных, психических, двигательных и сосудистых функций пациента при ДЭ, степень тяжести, течение и функциональный исход заболевания. Получены уравнения регрессии (математические модели), позволяющие оценить вероятную эффективность применения препарата «нейромедин» у пациентов с ДЭ. Результаты демонстрируют, что, аутоантитела к S100b и пептиду HLDF24, определяемые в сыворотке крови

являются биомаркерами заболевания. Изменения содержания изученных маркеров могут служить прогностически значимыми показателями, позволяющими объективизировать состояния пациента, характеризовать развитие и функциональный исход болезни, оценить эффективность и индивидуализировать проводимую терапию.

СЫВОРОТОЧНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОТРОПНЫХ АУТОАНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ С ФОКАЛЬНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ.

Е.И. Гусев, И.В. Лусникова, А.Б.Гехт

Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия

Становится все более очевидным, что иммунные нарушения и, в частности, аномалии в сывороточном содержании естественных аутоантител (а-АТ) к белкам нервных клеток, сопровождаются различными нарушениями ЦНС, в том числе эпилепсией (ЭПИ).

Нами оценивались изменения содержания нейротропных аутоантител (а-АТ) в пробах сывороток крови больных фокальной ЭПИ (n = 50; средний возраст – 29 лет). Из них симптоматическая ЭПИ была диагностирована у 39 пациентов, криптогенная ЭПИ – у 11, медио-базальная ЭПИ – у 31, неокортикальная ЭПИ – у 19. Среди пациентов с мезиальной височной ЭПИ (МВЭ) криптогенная ЭПИ была диагностирована у 6 человек, симптоматическая ЭПИ – у 25; из них у 6 больных - МВЭ с гиппокампулярным склерозом, у остальных - МВЭ, обусловленной специфической этиологией. Среди пациентов с неокортикальной ЭПИ 7 человек с мультилобарной (височно-теменной и лобно-височной) ЭПИ и 12 с височной ЭПИ.

Определение иммунореактивности НАТ (АТ1 и АИАТ2) к белкам S100, GFAP, MP65, NGF проводилось с помощью ИФА. Контрольную группу представляли сыворотки клинически здоровых лиц (n = 119; средний возраст – 30). Пациенты с генерализованной активацией иммунитета (с повышенным содержанием а-АТ к фосфолипидам, к ДНК и ANCA) из исследования исключались.

Группа больных ЭПИ достоверно отличалась от контрольной по уровню АТ1 и АИАТ2 к S100b, АИАТ2 к GFAP, АТ1 и АИАТ2 к MP65, АТ1 к NGF. При сравнении больных с лимбической (МВЭ) и неокортикальной ЭПИ были выявлены отличия по уровню АТ1 к S100b, АТ1 и АИАТ2 к NGF. Более высокие показатели отмечались в группе больных лимбической ЭПИ. Эта группа отличалась от группы неокортикальной ЭПИ по кластерному составу АТ к GFAP. Группа МВЭ с гиппокампулярным склерозом достоверно отличалась от группы криптогенной МВЭ по индексу отношения АТ1/АИАТ2 к GFAP. Группа больных мезиальной височной ЭПИ достоверно отличается от группы контроля по АТ1 к MP65 и индексам соотношения АТ1/АИАТ2. Группа больных неокортикальной ЭПИ отличалась от группы контроля по АТ1 и АИАТ2 к S100b; АТ1 и АИАТ2 к GFAP; АТ1 и АИАТ2 к MP65; АТ1 и АИАТ2 к NGF и индексу соотношения АТ1/АИАТ2 GFAP. Больные мезиальной височной ЭПИ с склерозом гиппокампа отличалась от группы контроля по индексам соотношения АТ1/АИАТ2 к S100b и MP65. Группа больных мезиальной височной ЭПИ, обусловленной специфической этиологией, достоверно отличалась от группы контроля по АТ1 к MP65 и всем индексам АТ1/АИАТ2. Больные неокортикальной височной ЭПИ отличалась от контроля по всем изучавшимся а-АТ. Отличий группы больных неокортикальной мультилобарной ЭПИ от группы контроля выявлено не было. Уровень АИАТ2 к NGF достоверно преобладал в группе симптоматической фокальной ЭПИ.

По ответу на терапию больные были разделены на 4 группы: I группа – ремиссия; II – больные с более чем 50% снижением частоты приступов; III – пациенты с менее чем 50% снижением частоты приступов; IV – фармакорезистентные больные.

Все группы достоверно отличались от контрольной по содержанию а-АТ. Наименьшее отличие от контрольной группы было выявлено по АТ1 к GFAP (все группы, кроме I, достоверно не отличались от контроля), АИАТ2 к NGF не отличались от контрольной группы у II и IV групп пациентов; по уровню АТ1 к S100b не было отличия IV

группы от группы контроля. Выявлена умеренная положительная связь уровня АИАТ2 к S100b и АТ1 к NGF с тяжестью течения ЭПИ ($r=0,320$; $p=0,024$ и $r=0,286$; $p=0,044$, соответственно). В группе больных с сохраняющимися припадками уровень АТ1 и АИАТ2 S100b, АТ1 GFAP, АИАТ2 MP65, АТ1 и АИАТ2 NGF был выше чем в группе ремиссии. Наибольшие уровни изучавшихся АТ1 и АИАТ2 были характерны для фармакорезистентных пациентов. Максимальный процент фармакорезистентных больных (от 64% до 90%) был представлен в кластерах высоких показателей а-АТ, а пациенты с последующей ремиссией преобладали в кластерах низких показателей (до 46%). Расчеты выявили низкую чувствительность (20-29%), но высокую специфичность (88-94%) повышения уровня а-АТ к S100b, GFAP, MP65, NGF у больных с резистентной ЭПИ. Обнаружены более высокие уровни а-АТ у больных с более тяжелым течением ЭПИ. Больные с серийными припадками составили до 88% кластера высоких показателей а-АТ.

Наши данные подтверждают наличие системного иммунного дисбаланса у больных ЭПИ, затрагивающего множество клонов лимфоцитов и производимых ими аАТ. Изменения уровней а-АТ зависят от типа (симптоматическая или криптогенная) и синдрома (МВЭ и неокортикальная) ЭПИ, длительности заболевания, тяжести приступов, эффективности противозепилептической терапии. Отмечается высокая специфичность повышения уровней а-АТ у больных с тяжелым течением развитием фармакорезистентной ЭПИ.

НОВЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВОЛЧАНКЕ С НЕЙРОПСИХИАТРИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ

Betty Diamond¹, Patricio T. Huerta², Czeslawa Kowal¹ and Bruce Volpe²

¹⁾ *The Feinstein Inst. Med. Research, North Shore LIJ Health System, Center for Autoimmune and Musculoskeletal Disease, New York;* ²⁾ *Weill Med. College of Cornell Univ., Dept. of Neurology & Neuroscience, Burke Cornell Medical Research Institute, New York 10605 USA*

Ранее мы исследовали влияние на ЦНС подкласса анти-ДНК антител (АТ), перекрёстно реагирующих с N-метил-D-аспартат рецепторами (NMDAR) и присутствующих в сыворотке 30-50% пациентов с системной красной волчанкой (СКВ). В экспериментах на мышах было показано, что эти АТ, проникая через гематоэнцефалический барьер и попадая в мозг, могут стать причиной когнитивных и поведенческих расстройств невоспалительного генеза.

Нейропсихиатрическая волчанка

Чем дольше живут пациенты с СКВ, тем чаще у них развиваются поздние осложнения заболевания, среди которых наиболее распространенными и самыми проблемными являются нейропсихиатрические проявления (NPSLE). Установлено, что NPSLE-симптомы (в основном, когнитивные нарушения и расстройства настроения) встречаются не менее чем у 85% пациентов с СКВ. Несмотря на клиническую важность NPSLE, об их этиологии известно мало. Предполагается, что полиэтиологичность SLE является причиной развития разных симптомов, в том числе и тех, которые могут быть частью NPSLE. В качестве возможных этиологических факторов фигурируют микроинфаркты, цитокины, лекарственные средства и ауто-АТ. На сегодняшний день считается доказанным, что микроинфаркты мозга, вызываемые антифосфолипидными АТ, могут быть ответственны за некоторые проявления NPSLE, однако у многих пациентов с СКВ, имеющих NPSLE симптомы, антифосфолипидные АТ отсутствуют.

Недавно было показано, что повышенные уровни интерлейкина-6 (ИЛ-6) в спинномозговой жидкости коррелирует с острой неврологической симптоматикой при NPSLE. Однако не ясно, имеется ли зависимость симптоматики от ИЛ-6 или повышенные уровни ИЛ-6 лишь указывают на воспаление ткани мозга. Нет прямых доказательств связи лекарственной терапии с симптомами NPSLE, хотя исследования на грызунах подтвердили, что длительное лечение кортикостероидами может вести к повреждению нейронов гиппокампа.

Достаточно подробно исследовались антинейрональные АТ при СКВ. В большинстве исследований отмечалось связывание полученных от пациентов сывороточных АТ с нервной тканью *in situ* или с культивируемыми нейронами, но молекулярные мишени АТ не были идентифицированы. Результаты таких исследований весьма разочаровывают и не дают прямых доказательств того, что именно АТ нарушают функции нейронов. В ряде исследований отмечались корреляции между сывороточным титром АТ и NPSLE-симптомами. Однако эти результаты также неубедительны, поскольку в исследованиях не учитывалась роль гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Недавно мы обнаружили, что часть анти-ДНК АТ перекрёстно реагирует с NMDA-рецепторами. Эти АТ присутствуют в сыворотке от 30 до 50 % больных СКВ. В модельных экспериментах мышей иммунизировали пептидом, имеющим последовательность, сходную с последовательностью аминокислотных остатков NR2A- и NR2B-субъединиц NMDA-рецептора, распознающихся некоторыми анти-ДНК АТ. Сывороточные АТ иммунизированных мышей связывались как с ДНК, так и с NMDA-рецепторами. Эти АТ влияли на функции NMDA-рецепторов и могли запускать процессы эксайтотоксичности, ведущие к гибели нейронов.

Обычно у иммунизированных мышей патология мозга не выявлялась, но при повреждении ГЭБ, эти АТ могли вызвать гибель нейронов. К своему удивлению мы обнаружили, что топика повреждений мозга зависит от агента, используемого для нарушения ГЭБ. При повреждении барьера липополисахаридами АТ поступали к нейронам гиппокампа, вызывали их гибель и, в конечном счёте, нарушения памяти. При использовании адреналина для нарушения ГЭБ у иммунизированных мышей, АТ получали доступ к миндалине и повреждение соответствующих нейронов вело к развитию тревожных расстройств. Эти результаты свидетельствуют, что в зависимости от повреждаемой области мозга, АТ к NMDA могут вызывать два разных проявления NPSLE: когнитивные нарушения и поведенческие расстройства.

Для подтверждения того, что АТ от пациентов с СКВ обладают нейротоксичностью, мы вводили сыворотку от больных СКВ, содержащую АТ к ДНК/ NMDA мышам, системно получавших липополисахариды. Это вело к гибели нейронов гиппокампа и нарушениям памяти. Чтобы доказать, что именно АТ ответственны за гибель нейронов и последующие неврологические расстройства, мы выделяли из сыворотки больных СКВ фракцию IgG и вводили ее внутривенно неиммунизированным мышам. Когда затем мышам вводили липополисахариды, у них развивались расстройства памяти, свидетельствующие, что именно IgG является нейротоксичным агентом сыворотки больных. Затем было показано присутствие этих АТ в мозге больных СКВ и установлено, что клинические проявления NPSLE коррелируют с титрами АТ в ликворе.

В заключение отметим, что наши исследования свидетельствуют о важной нейропротекторной роли ГЭБ. Понимание молекулярных основ повреждения барьера может иметь огромное значение для медицины. Проведенные исследования позволили установить, что именно АТ могут быть ответственны за ключевые симптомы NPSLE. При этом титры АТ в ликворе, но не в крови, коррелировали с клинической картиной. Многие важные вопросы пока не решены. Сколько существует разных АТ, способных повреждать нейроны и нарушать их функции? Насколько широк круг заболеваний, при которых присутствуют эти АТ? Решение их – дело будущих исследований.

КОНФОРМАЦИОННОЕ МНОГООБРАЗИЕ КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКТИВНОСТИ АУТОАНТИТЕЛ

James Leo

MRC Laboratory of Molecular Biology, Hills Road, Cambridge CB2 2HQ, UK. lcj@mrc-lmb.cam.ac.uk

Принято считать, что антитела (АТ) – это белки с высокой специфичностью связывания, своего рода «магические пули», нацеленные на патогены и не повреждающие собственные клетки. Однако АТ могут опосредовать аутоиммунные и аллергические ре-

акции, связываясь и с антигенами (АГ), отличными от тех, которым был индуцирован их синтез. Такая недостаточность специфичности могла бы возникать при близкой родственности «чужих» и «своих» эпитопов, однако при многих аутоиммунных состояниях этого не выявляется. Углубление знаний о структуре и функции белков, позволяет предположить, что сайты связывания АТ могут иметь несколько разных конформаций, находящихся в состоянии равновесия. Предположительно, наличием разных предсуществующих изомеров АТ, может обеспечиваться перекрестное реагирование АТ со структурно несхожими АГ. В обзоре приведены биофизические доказательства конформационного многообразия АТ и обсуждается его роль в нарушении специфичности и развитии иммунных расстройств.

Молекулярная мимикрия

Большое количество биохимических, биофизических и структурных данных, свидетельствующих, что АТ весьма специфично связывают свои мишени [1, 2]. Гораздо меньше известно о механизмах их перекрестного реагирования с разными АГ, хотя это отнюдь не с редкость. В исследованиях *in vitro* перекрестная реактивность, как правило, нежелательная, встречается очень часто. Наиболее часто перекрестная реактивность зависит от того, что разные АГ имеют структурное (и эволюционное) родство и имеют сходные эпитопы [3-5]. Такого рода перекрестная реактивность называется молекулярной мимикрией [6-8]. Предполагается также, что недостаточно четкое различие разных АГ может зависеть от особенностей строения связывающих участков АТ. Как правило, в АТ гораздо чаще, чем в остальных белках, встречаются остатки ароматических аминокислот [9, 10], что может усиливать неспецифическое связывание за счет «гидрофобной клейкости» - неспецифического взаимодействия с гидрофобными лигандами [11]. Однако мы показали отсутствие зависимости аффинности связывания АГ с их гидрофобностью, что свидетельствует о каких-то иных механизмах перекрестной реактивности [12]. Действительно, если бы одного гидрофобного взаимодействия было достаточно для физиологически значимого связывания, иммунная система едва ли могла бы различать АГ и обеспечивать целенаправленный иммунный ответ.

Негомологичная перекрестная реактивность

Ограничивается ли перекрестная реактивность неспецифическим или гомологичным связыванием или же эти феномены просто легче обнаружить? Предсказать какие АГ, не схожие с АГ-мишенью, будут перекрестно и специфично реагировать с АТ очень сложно. Однако здесь может помочь систематический анализ больших библиотек АГ [13]. Теоретические модели позволяют предположить, что число комплиментарных лигандов для любого связывающего сайта являются функцией размера библиотеки лигандов и предельному (*cut-off*) значению аффинности, по которому выбирается библиотека [14-16]. В тех немногих случаях, когда АТ являлись предметом систематического анализа, эти предсказания в значительной степени подтверждались. В результате был выявлен ряд перекрестно реагирующих АГ с несходной структурой. Широкий скрининг перекрестнореагирующих АТ был проведен Varga и сопр., использовавших анти-ДНП IgE (SPE7) против библиотеки из более чем 2000 соединений и выявивших ряд неродственных соединений, конкурирующих за связывание с ДНП [17].

Если структурные основы мимикрии понятны интуитивно, то механизм связывания с неродственными АГ не очевиден. Одна из возможностей состоит в том, что каждый АГ-связывающий сайт содержит множественные суб-сайты, способные к связыванию разных АГ-детерминант. В ранней работе Manjula и соавт. выявили множественные субсайты в антигаптенном АТ 460 [18]. Флюоресцентный перенос между конъюгированной с цистеином флюоресцентной меткой и конкурирующими гаптенами ДНП и менадионом позволил оценить расстояние между их сайтами связывания, оно составило 1,2 нм. Идея дискретных участков связывания приемлема для малых гаптенов, но пептиды и белки имеют комплиментарные участки, занимающие практически весь связываю-

щий сайт. Тем не менее, существуют доказательства, что множественные неродственные пептиды могут связываться с одним и тем же сайтом АТ путем взаимодействия с разными наборами частично совпадающих остатков. Kramer и соавт. получили в кристаллическом виде два комплекса анти-gp24 (ВИЧ-1) АТ СВ4-1 с пептидами, не родственными ни по структуре, ни по последовательности. Пептиды принимали разные конформации в связывающем сайте и связывались с пересекающимися наборами остатков [19].

Множественные или частично перекрывающиеся субсайты определяют множественную специфичность без нарушения структуры участка связывания. Однако при наличии единственной конформации связывающего сайта, на потенциальные перекрестно реагирующие АГ накладываются довольно жесткие стерео-химические ограничения. Пионер иммунологии Карл Ландштейнер предполагал, что «широчайшее антигенное разнообразие» может быть достигнуто «за счет различий свертывания одной и той же полипептидной цепи», т.е. путем принятия различных конформаций сайтом связывания одного и того же АТ [20]. Экспериментальное подтверждение такого «конформационного многообразия» впервые было получено Lancet и Pecht в 1976 году во время плодотворной работы по кинетике АТ [14]. Они выявили, что связывание АТ МОРС 460 с лигандом проходит две фазы в результате изомеризации между разными предсуществующими изомерами. Двухфазная и даже трехфазная кинетика наблюдалась Foote и Milstein при связывании АТ с оксазолоном [21]. В их работе более 25% исследованных АТ показали кинетику, указывающую на предсуществующее равновесие. Новые спектроскопические методы, такие как трехимпульсная фотонная эхоспектроскопия, применялись для измерения еще более быстрых конформационных переходов длительностью от десятков фемтосекунд до наносекунд [22]. Криоэлектронная томография также используется для визуализации конформационной гибкости, хотя в основном она пока была направлена на целый Ig домен [23]. Наконец, гетероядерная трехмерная ЯМР-спектроскопия выявила значительное конформационное многообразие АТ. В исследовании Fv и scFv связывающих доменов фосфорилхолинсвязывающего АТ McPC603 Freund и соавт. наблюдали быстрое движение петель CDR и изгибов β -складок [24].

Наиболее распространенный метод изучения структуры АТ (и белков) – рентгеновская кристаллография. С ее помощью изучена структура многих АТ, причем их свободные и связанные формы значительно различались. Это указывает на то, что в связывающем сайте имеется значительный потенциал для конформационных переходов. К несчастью, на основе изучения структур АТ трудно определить происхождение их структурного многообразия. Большинство специалистов по кристаллографии трактуют различия в структуре как доказательство механизма индуцированного соответствия [2]. Строго говоря, даже в модели индуцированного соответствия допущение термодинамического равновесия предполагает номинальное существование индуцированной конформации существующей до связывания АГ. Однако вряд ли такие изомеры вносят существенный вклад в перекрестную реактивность, если она энергетически невыгодна. Доказательства того, что конформационное многообразие играет роль в перекрестной реактивности, наиболее очевидны при сравнении структур АТ с разными перекрестно реагирующими АГ. Недавно Schuermann и соавт. показали, что АТ к одноцепочечной ДНК способны связывать небольшой лиганд 4-(2-гидроксиэтил)-пиперазин-1-этансульфоновую кислоту (HEPES) [25]. Сравнение структур двух комплексов выявило существенную перестройку CDR петли H3 почти на 13 Å, что превращало связывающий сайт из узкой щели, связывающей ДНК, в широкий карман, принимающий HEPES.

Мы получили прямые экспериментальные доказательства связи между конформационным и функциональным многообразием на модели анти-ДНП IgE АТ SPE7 [26]. Предравновесная кинетика связывания выявила существование двух функционально разных изомерных форм. Минорная форма, составляющая при условии равновесия до 20% популяции, связывала ДНП, тогда как основной изомер ДНП не связывал. Структура двух изомеров, определенная с помощью рентгеновской кристаллографии в области

сайтов связывания была очень разной. У минорного изомера имелся воронкообразный участок связывания с глубоким карманом, прилежащим к контактирующему с растворителем остатком триптофана, который оказывался с ДНП в структуре комплекса АГ-АТ. Энергетически доминирующий изомер формировал более плоскую поверхность содержащую, широкую щель или канал, что делало его похожим на АТ, связывающее пептид или белок. Чтобы выяснить, может ли этот изомер обуславливать перекрестное связывание с неродственным АГ, мы использовали систему бактериального дисплея FlITx для скрининга пептидной библиотеки на связывание с SPE7. Мы выявили ряд структурно родственных пептидов, которые, будучи представлены на белке-носителе тиоредоксине, связывались с SPE7 с μM аффинностью. По структуре одного из этих рекомбинантных тиоредоксиновых АГ в комплексе с SPE7, было установлено, что белковый АГ связывался с преобладающим изомером с плоской конформацией связывающего сайта. Таким образом, АТ SPE7 было способно связывать два неродственных АГ (гаптен и белок) за счет существования двух изомеров, равновесной смесью которых представлена популяция АТ в отсутствие АГ.

Конформационное многообразие и аутоиммунитет

Привлекательной альтернативой молекулярной мимикрии является конформационное разнообразие, как механизм, связанный с индукцией аутоиммунных реакций. Это выглядит следующим образом. АТ представлены равновесной смесью разных конформаций, одни из которых способны связывать бактериальный АГ, а другие – собственные АГ. Если такое АТ образовалось в ответ на инфекцию, то связывание с бактериальным АГ приведет к сдвигу равновесия в сторону уменьшения количества аутоиммунного изомера, что позволяет антителопродуцирующей клетке избежать развития Т-клеточной толерантности. При освобождении от инфектов наступает новое равновесное состояние, в результате чего повышается связывание АТ с ауто-АГ и развивается аутоиммунное состояние. Важное отличие механизма аутоиммунитета, основанного на конформационном многообразии заключается в том, что бактериальный и собственный АГ не обязательно должны быть схожи между собой. В результате становится понятным, почему при многих аутоиммунных расстройствах не были обнаружены ауто-АГ-мишени или индуцирующие микробные АГ. В недавней работе McClain и соавт. обнаружили у пациентов с волчанкой АТ, перекрестно реагирующие с пептидами, не имеющими сходства первичной последовательности – эпитоп белка EBV-1 вируса Эпштейна-Барр GGSGSGPRHRDGVRR и эпитоп TKYKQRNGWSHK (антиген Ro человека) [27]. Поскольку в этих пептидах содержатся основные аминокислоты, имеющие близкие изоэлектрические точки pI, авторы протестировали набор контрольных пептидов со схожими pI. Не было выявлено перекрестной активности не только по отношению к контрольным пептидам, но и к таким ауто-АГ, как ДНК. Таким образом, специфические стереохимические ограничения определяют уникальность комплементарного сайта связывания для каждого эпитопа. Систематический анализ конформационной пластичности АТ проведен не был, однако в структуре АТ (например, RF-AN) в комплексе с ауто-АГ была выявлена необычно слабая комплементарность связывающего сайта, гораздо более слабая, чем можно было бы ожидать в рамках механизма молекулярной мимикрии [28]. В основном, взаимодействие происходило на поверхности почти перпендикулярной обычному сайту связывания. Интересно, что сходная поверхность на краю участка связывания наблюдается в альтернативном изомере SPE7 при взаимодействии со случайным белковым АГ. В исследовании Wardemann и соавт. было выявлено существенное преобладание аутореактивных АТ в преиммунном репертуаре [29]. Для таких АТ были характерны необычно длинные области CDR3, предрасполагающие к конформационной пластичности. Неудачные попытки выявить молекулярную мимикрию при многих аутоиммунных болезнях указывают на возможную альтернативу – систематический скрининг неродственных АГ.

Аутоиммунитет и аллергия представляют собой пример сбоев в работе иммунной системы – нарушение толерантности, супрессии Т/В клеток, анергии, активации и иммунологического игнорирования. Лишь детально изучив эти процессы, мы сможем надеяться объяснить отдельные нарушения. Однако, на определенном этапе, для индукции этих нарушений, должно возникнуть простое биомолекулярное распознавание ауто-АГ, чужеродного АГ, либо прямое связывание с активационным рецептором, и важнейшая задача – разобраться в деталях этих процессов.

Список литературы

1. Bhat, T. N., et al., (1990) *Nature* **347**, 483-5.
2. Rini, J. M., Schulze-Gahmen, U. & Wilson, I. A. (1992) *Science* **255**, 959-65.
3. Ang, C. W., Jacobs, B. C. & Laman, J. D. (2004) *Trends Immunol* **25**, 61-6.
4. Albert, L. J. & Inman, R. D. (1999) *N Engl J Med* **341**, 2068-74.
5. Rowley, D. & Jenkin, C. R. (1962) *Nature* **193**, 151-4.
6. Damian, R. T. (1997) *Parasitology* **115 Suppl**, S169-75.
7. Damian, R. T. (1987) *Parasitol Today* **3**, 263-6.
8. Damian, R. T. (1989) *Curr Top Microbiol Immunol* **145**, 101-15.
9. Padlan, E. A. (1990) *Proteins* **7**, 112-24.
10. Padlan, E. A. (1994) *Mol Immunol* **31**, 169-217.
11. Gueant, J. L., et al., (1995) *Mol Immunol* **32**, 259-66.
12. James, L. C. T., D.S. (2003) *Protein Science* **12**.
13. Bussow, K., et al., (1998) *Nucleic Acids Res* **26**, 5007-8.
14. Lancet, D. & Pecht, I. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **73**, 3549-53.
15. Inman, J. (1978) *The antibody combining region: speculation on the hypothesis of general multispecificity*.
16. Perelson, A. S., Oster, G.F. (1979) *J. Theor. Biol.* **81**, 645-670.
17. Varga, J. M., et al., (1991) *Mol. Immunol.* **28**, 641-54.
18. Manjula, B. N., Richards, F. F. & Rosenstein, R. W. (1976) *Immunochemistry* **13**, 929-37.
19. Kramer, A., et al., (1997) *Cell* **91**, 799-809.
20. Lansteiner, K. (1962) *The Specificity of Serological Reactions* (Dover Publications, New York).
21. Foote, J. & Milstein, C. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 10370-4.
22. Jimenez, R., et al., (2003) *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 92-7.
23. Sandin, S., et al., (2004) *Structure (Camb)* **12**, 409-15.
24. Freund, C., Ross, A., Pluckthun, A. & Holak, T. A. (1994) *Biochemistry* **33**, 3296-303.
25. Schmidt, S., Sunyaev, S., Bork, P. & Dandekar, T. (2003) *Trends Biochem Sci* **28**, 336-41.
26. James, L. C., Roversi, P. & Tawfik, D. S. (2003) *Science* **299**, 1362-7.
27. McClain, M. T., et al., (2005) *Nat Med* **11**, 85-9.
28. Corper, A. L., et al., (1997) *Nat. Struct. Biol.* **4**, 374-81.
29. Wardemann, H., et al., (2003) *Science* **301**, 1374-7.

ЕСТЕСТВЕННЫЙ АУТОИММУНИТЕТ КАК СИСТЕМА СИНХРОНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ ПРОЦЕССОВ

А. Ш. Зайчик¹, Л.П. Чурилов²

¹НИИ эндокринологии СПбМАПО Росздрава; ²Кафедра патологии медицинского факультета СПбГУ

«Отмечали Вы, схоласты,
Птолемея юбилей.
Но дошла к Вам лет так за сто
Весть, что прав был Галилей.
Но плечами Вы пожали,
Мол, отрётся Галилей!
Отмечать вы продолжали
Птолемея юбилей!»

Л.Н. Мартынов, 1960 [27]

Аутоиммунный ответ привлекает внимание патофизиологов с тех пор, как появилась иммунология, поскольку явление аутоиммунитета заключает в себе основное противоречие патофизиологии. Именно аутоиммунитет - феномен, в котором единство, взаимное проникновение и относительность лома и защиты, идея аутопатокинеза, крайне важная для всей патологии как науки - выражены наиболее ярко.

Многие годы в нашей лаборатории исследуются свойства антител (АТ) к ядерным

антигенам (АГ) эндокринных клеток. В этих работах продемонстрированы возможности применения специфических иммуноглобулинов для направленного изменения генетически детерминированных клеточных функций. Выявлены некоторые закономерности антителообразования при иммунизации животных ядерными АГ; охарактеризована иммуноспецифичность АТ, проанализированы механизмы их проникновения во внутриклеточные пространства и их ассоциация с ядерными белками. Особенно важными, на наш взгляд, являются данные, свидетельствующие о наличии в крови интактных животных аналогичных ауто-АГ и соответствующих им ауто-АТ. Эти данные позволяют говорить об аутоиммунитете как о системе физиологической регуляции морфофункциональных процессов.

В то же время в литературе аутоиммунитет и поныне часто рассматривается лишь как своеобразный путь к возникновению той или иной формы патологии. Практически с момента своего возникновения, классическая иммунология придерживалась в вопросе об аутоиммунитете принципа "*Horror autotoxicus*", приписываемого П. Эрлиху и Э. Моргенроту (1900-1901), согласно которому в организме не формируются АТ к собственным АГ [51]. Почти сразу после его провозглашения, ученик И.И. Мечникова Е.С. Лондон (1901) и П. Уленгут (1903) экспериментально получили ауто-АТ, соответственно, против спермы и хрусталика [26, 81], а другой ученик Мечникова - А.А. Безредка [42] доказал существование естественных ауто-АТ к собственным эритроцитам (1901). Затем Й. Донатом и К. Ландштейнером [49] была описана и первая аутоиммунная болезнь человека - пароксизмальная холододовая гемолитическая анемия-гемоглобинурия (1904). Догма о чисто патологической сущности аутоиммунитета была поколеблена, но не повержена: иммунологи по-прежнему считали, что аутоиммунный ответ в норме не закономерен, а возможен лишь в эксперименте и при патологии. Эта установка с небольшими поправками дожила до 70-х годов XX века. Концептуально важно, что в трудах самого П. Эрлиха такое одностороннее понимание аутоиммунитета, перекочевавшее и в некоторые недавно изданные пособия, не имело какой-либо основы. Напротив, именно П. Эрлих рассматривал АТ как «оторвавшиеся от клетки рецепторы». По сути, он предвидел гомологию рецепторных белков и ауто-АТ, впоследствии экспериментально доказанную [25] и предвосхитил современную концепцию физиологического аутоиммунитета.

Известно, что ядерные генетические программы организма записаны на двуспиральной комплементарной ДНК. Соответственно, напротив любого пептида кодируется его структурный антоним или антипептид. Таким образом, способность к генерации антирецепторов и антисигналов заложена в самой основе функционирования клеток [44, 78]. В такой трактовке утверждение, что организм состоит из «Анти-Тел», может восприниматься не образно, а почти буквально.

Сходная ситуация в учении о клеточных механизмах аутоиммунитета. Явления фагоцитоза были открыты И.И. Мечниковым в 1883 году, и с тех пор многие представители медицины и биологии трактовали этот процесс (заимствованный как функция внутриклеточного пищеварения у простейших) в качестве защитной реакции, свойственной патологии и направленной лишь против чужого, антигенно чужого. Тем не менее, сами основоположники иммунологии установили, что клеточные механизмы «аутоагрессии» свойственны организму и в норме. А. О. Ковалевский и позже - И.И. Мечников указывали, что в онтогенезе клетки личиночных органов у зародыша мухи элиминируются собственными блуждающими фагоцитами [29]. К сожалению, это явление, составляющее основу морфогенеза и дифференцировки, оставалось без внимания многие десятилетия. Только в 1981–1984 годах М.М. Кау было показано, что запрограммированная в онтогенезе физиологическая гибель клеток обусловлена естественным аутоиммунным ответом на стареющие клетки, у которых экспрессирован на поверхности особый нетканеспецифический АГ-гликопротеин (band-3). Естественные физиологические ауто-АТ метят клетки, подлежащие устранению, а макрофаги осуществляют их

опсонинозависимый фагоцитоз. Отметим, что еще И.И. Мечников предполагал, что ауто-АТ обеспечивают старческую атрофию органов [28]. В наших опытах [11, 15, 16] актиномицин D тормозил атрофию надпочечников у гипофизэктомированных животных. Это свидетельствует, что сама по себе атрофия представляет запрограммированный процесс, требующий обращения к генетическим матрицам и синтеза определённых РНК! Эти данные, фактически, послужили одним из первых экспериментальных доказательств роли апоптоза «по умолчанию» в атрофии органов, несмотря на то, что концепция физиологического апоптоза в ее современном виде сложилась значительно позже [82].

В настоящее время доказано, что АТ могут как индуцировать [50, 71], так и ингибировать апоптоз [58], т.е. запрограммированную саморазборку клеток. Ввиду некоторых результатов, полученных нами ранее (см. ниже), интересно, что изобретатели тормозящих апоптоз АТ к каспазе-3 использовали специальный пептид, обеспечивающий их чрезмембранное проникновение. A.Ruiz-Argüelles и D.Alarcon-Segovia дают обзор апоптогенных эффектов ауто-АТ и подчеркивают, что апоптоз, сам по себе, может рассматриваться как способ аутопрезентации собственных АГ [74]. Таким образом, новая концепция аутоиммунитета, корнями уходящая в гипотезу И.И. Мечникова о физиологическом характере умеренного аутоиммунного ответа, исходит из того, что умеренный аутоиммунный ответ на свои АГ - это естественное явление и необходимое условие нормального функционирования самой иммунной системы. Шире того - это предпосылка нормальной регуляции и синхронизации клеточных функций и морфогенеза [6, 14, 46, 66]. В норме аутоиммунитет ограничен многими регуляторными механизмами. При патологии могут происходить нарушения регуляции аутоиммунного ответа, ведущие к аутоаллергии, то есть аутоиммунным заболеваниям [6, 19, 22, 77]. Специализированная иммунная система призвана осуществлять индуцированный комплементарный биосинтез белков, и, по образному выражению F. Dixon [48], иммунный ответ на собственные АГ «не может считаться явлением редким, или непременно приводящим к заболеванию». В результате длительных экспериментальных исследований была сформулирована концепция, утверждающая, что комплементарность ауто-АТ и ауто-АГ составляет структурную основу не только для процессов, сущностью которых является нейтрализация биологически активных молекул или предотвращение их взаимодействия с рецепторами и лигандами, но и для стимуляции некоторых клеточных и гуморальных эффектов [14].

Основоположником исследований регуляторной роли ауто-АТ по праву можно считать Е.С. Лондона, впервые показавшего присутствие аутоспермоцитотоксинов в норме и постулировавшего их регуляторную роль относительно половых желёз [26]. В 1909 г. А.А.Богомольцем [2] была продемонстрирована возможность воздействия супраренотоксической сывороткой на гормонообразующие клетки надпочечников. Результатом являлось усиление их функции, сопровождающееся секрецией физиологически активных начал. В 30-60-е годы ученик А.А. Богомольца профессор Л.Р. Перельман и его сотрудники, неоднократно ставили опыты по перекрестным испытаниям разных цитотоксических сывороток. В итоге Л.Р. Перельман пришел к выводу, «что дальнейшему расширению лечебного или профилактического применения цитотоксинов все еще препятствуют представления о действительных пределах специфичности их биологического эффекта» [32]. Л.Р.Перельманом и И.М.Нейманом [30, 32] специфичность существовавших тогда цитотоксических антисывороток оценивалась как относительная, а для её повышения было рекомендовано проводить иммунизацию отдельными субклеточными фракциями.

Как показали наши опыты с иммуноглобулинами (Ig), направленными против различных компонентов хроматина, именно АТ против ядерных АГ обладают высокой органной специфичностью; их введение в сравнительно высоких дозах не вызывает морфологически выраженного повреждения клеток. В середине 60-х годов нами было продемонстрировано, что иммунизация животных фракционированным материалом кле-

ток щитовидной железы позволяет получить Ig, стимулирующие *in vivo* продукцию тироксина и трийодтиронина [7, 8, 11, 14]. Наиболее эффективными оказались IgG против ядерной фракции и дезоксирибонуклеопроотеида (ДНП) тироцитов. Стимулирующие эффекты АТ воспроизводились у животных, подвергнутых гипофизэктомии, причём в те сроки, когда базальный уровень синтеза йодированных производных тиронина был крайне низким. Введение специфических АТ приводило к резкому повышению секреции тироидных гормонов; повторные инъекции IgG позволяли сохранить высокие концентрации трийодтиронина и тироксина в течение длительного времени. Было установлено, что для получения биологически активных Ig необходимо присутствие в материале, используемом для иммунизации, белков с высокой электрофоретической подвижностью. Антисыворотки к субклеточным фракциям, не содержащим ядерного материала, не были эффективны [11-14]. Нами впервые была предпринята попытка охарактеризовать аффинность антихроматиновых АТ с помощью прямого микрокалориметрического измерения теплот их взаимодействия с АГ. Комплемент успешно использовался как усилитель специфического теплового эффекта. В результате термохимических исследований, было показано, что микрокалориметрия позволяет регистрировать иммуноспецифические эффекты, которые коррелировали с серологическими данными, отражая формирование комплексов АТ-АГ [20, 21, 24 37, 38].

Перфузия специфическими (но не преиммунными) Ig канюлированного надпочечника резко повышала уровень инкреторной активности органа. Особое значение имел тот факт, что АТ к ядерным антигенам восстанавливали специфическую адренкортикальную секрецию у гипофизэктомированных животных, увеличивались размеры и вес надпочечников, а в клетках-мишенях АТ отсутствовали признаки альтерации, но обнаруживались ультраструктурные изменения, характерные для действия физиологического активатора гормонообразования - АКТГ. Следует подчеркнуть, что, вызывая быструю и длительную стимуляцию гормонообразования, эти АТ, при введении даже в чрезмерно больших дозах, не провоцировали цитотоксического эффекта [10, 13, 37]. Стимуляция сопровождалась накоплением в клетках пучковой и сетчатой зон коры надпочечников соединений, обладающих α -кетогруппами.

Были установлены принципиальные отличия в механизмах стимуляции стероидогенеза, реализуемых специфическими АТ и АКТГ. Процессы АТ-зависимой стимуляции не предусматривали синтеза короткоживущих белковых посредников. Если АКТГ проявлял физиологические эффекты лишь в условиях сохраненного синтеза молекул информационной РНК (м-РНК), то АТ к ядерным АГ и ДНП были способны активировать стероидогенез даже в условиях блокады синтеза м-РНК определенными дозами актиномицина D. Предварительное введение животным актиномицина D вызывало рефрактерность коркового вещества надпочечников к АКТГ, в то время как АТ-зависимая стимуляция сохранялась. Отметим, что актиномицин D снижал чувствительность коры надпочечников лишь в том случае, если его введение предшествовало инъекциям АКТГ, а одновременное введение актиномицина D и гормона не сказывалось на интенсивности стероидогенеза [15]. Таким образом, блокирование синтеза м-РНК должно было предшествовать воздействиям АКТГ. Сам актиномицин D тормозил апоптоз адренкортицитов и запрограммированную атрофию коры надпочечников у гипофизэктомированных крыс (см. выше).

Полученные факты позволили предположить возможность воздействия на механизмы реализации «программы смерти» при помощи агентов, избирательно блокирующих ДНК-зависимый синтез м-РНК. Для проверки этой идеи были предприняты эксперименты, предусматривающие изменение процессов транскрипции методами, принципиально отличавшимися от традиционных. У животных, лишенных гипофиза, производилось удаление щитовидной железы. Правомерность подобного вмешательства основана на наблюдениях, что тироксин и его аналоги активируют ДНК-зависимый синтез м-РНК в клетках разных органов и увеличивают образование р-РНК. Введение трийодти-

ронина гипofизэктомированным крысам повышало включение меченых предшественников в РНК. Более того, исследования Н. Seo [75] позволили заключить, что тиреоидные гормоны непосредственно влияют на реализацию генетической информации. Следовательно, гипотиреоз должен был тормозить процессы, ведущие к атрофии (инволюции органа), развивающиеся вследствие отсутствия АКТГ.

У гипofиз-тироидэктомированных животных, также как и у гипofизэктомированных крыс, получавших актиномицин D, исследовали весовые показатели надпочечников, уровни кортикостерона и структурную организацию клеток пучковой зоны. В итоге были получены доказательства того, что инволюционные процессы в клетках коры надпочечников, развивающиеся при ликвидации тропных влияний гипofиза, могут быть резко заторможены блокированием синтеза м-РНК. При этом сам характер воздействия, приводящего к ингибированию ДНК-зависимого синтеза РНК (актиномицин D или состояние гипотиреоза), не был определяющим [11]. Таким образом, для направленного регресса органа, в данном случае, коры надпочечников, было необходимо образование *de novo* м-РНК. Кроме того, было установлено, что кора надпочечников нормальных животных чувствительно реагирует даже на однократную инъекцию пурамицина. Гистохимические и электронно-микроскопические исследования клеток пучковой зоны коры крысиных надпочечников, взятых через 24 часа после его введения, выявляли снижение содержания стероидных соединений, обладающих α -кетогруппами, а ультраструктурные преобразования соответствовали тем, которые наблюдаются у гипofизэктомированных животных. Цитофизиологические изменения развивались параллельно динамике секреции стероидных гормонов.

На фоне пурамицина инъекции АКТГ не стимулировали секреторную активность клеток пучковой зоны. Секреция кортикостерона оставалась низкой, не наблюдалось характерной для нормальных животных динамики изменений в содержании предшественников стероидных соединений.

Введение антиядерных Ig животным, получавшим пурамицин, сопровождалось увеличением синтеза и секреции кортикостерона. Его концентрация в крови люмбадренальной вены через 17 мин после инъекции АТ, была почти в два раза выше, чем до введения. Следовательно, можно предположить, что АТ к ядерным АГ были способны проявлять стимулирующий эффект даже в тех случаях, когда синтез транспортных РНК подавлен пурамицином. Еще более впечатляющие результаты были получены в экспериментах на животных, лишенных гипofиза. Пурамицин вводился гипofизэктомированным крысам сразу после операции и через 24 часа. Поступление АТ к ядерной фракции приводило более чем к трехкратному увеличению концентрации кортикостерона. Электронно-микроскопическое изучение показало, что в цитоплазме клеток пучковой зоны происходило накопление липидных капель и увеличивалось количество свободных рибосом. Липидные капли приобретали двух- или трехконтурную оболочку; наблюдалась трансформация крест митохондрий от тубуло-саккулярного к везикулярному типу. Известно [56], что трансформация митохондрий, а также усложнение оболочки липосом свидетельствуют об активации синтеза стероидных соединений, так как мембранные образования эндоплазматического ретикулюма и митохондрий несут на своей поверхности ферменты, обеспечивающие этапы биосинтеза гормонов. Полученные результаты позволяли утверждать, что антиядерные АТ способны стимулировать биосинтез глюкокортикоидных гормонов в условиях, когда физиологический стимулятор функции клеток пучковой зоны (АКТГ) не был эффективен.

Каковы же возможные различия в механизмах действия антиядерных АТ и АКТГ? Стимулирующие эффекты АКТГ предусматривают активацию образования ц-АМФ и синтез короткоживущего белкового посредника (ключевого протеина), осуществляющего эффекты специфической депрессии [47]. Рефрактерность надпочечников крыс, получавших пурамицин, к АКТГ обусловлена блокадой синтеза «ключевых протеинов» и отсутствием, в связи с этим, считывания специфической генетической инфор-

мации. Сохранение стимулирующих эффектов АТ в условиях блокады синтеза м-РНК определенными дозами актиномина D, а также т-РНК - пурамицином, свидетельствует о том, что для реализации активирующих влияний специфических АТ не требуется вовлечения в процесс короткоживущих белков-дерепрессоров определенных участков генома. Мы пришли к выводу, что в наших экспериментах молекулы АТ или их фрагменты сами (в отличие от АКТГ) обуславливали дерепрессорные эффекты.

Признанию роли АТ в качестве физиологических регуляторов препятствовали давние догматические убеждения в том, что молекулы АТ или их фрагменты неспособны непосредственно воздействовать на генетические механизмы из-за невозможности проникать в клеточные ядра и ассоциироваться с ядерными белками в условиях *in vivo*. Между тем, еще в 1964 г. наблюдали проникновение АТ к ядерным АГ в живые яйцеклетки морского ежа. Методом иммунофлюоресценции было показано специфическое связывание АТ против азотистых оснований частично денатурированной ДНК с гомологичными АГ этих клеток [72].

В 1973 и 1981 гг. с помощью иммунофлюоресцентного анализа мы показали, что специфические (но не преиммунные) кроличьи IgG против АГ ядер коры надпочечников крыс *in vivo* проникают в клетки разных зон коры надпочечников уже в первые 45 мин. после их в/в инъекции [13, 37]. Это было первое экспериментальное доказательство проникновения иммуноглобулинов в живые клетки *in vivo*. Позднее аналогичные данные по проникновению в живые человеческие мононуклеарные лейкоциты ауто-АТ против ядерных антигенов, выделенных из сывороток больных системной красной волчанкой, получили мексиканские авторы [40]. В наших экспериментах выяснилось, что специфические IgG оказываются в ядрах клеток-мишеней в сроки, непосредственно предшествующие максимуму их стероидогенного эффекта [37, 38]. Внутрядерная локализация специфических АТ была подтверждена и с помощью автордиографии срезов коры надпочечников крыс, получавших соответствующие IgG, меченные I^{125} . После в/в введения преиммунные IgG не обнаруживались в ядрах клеток надпочечников или печени, а IgG к ядерным АГ коры надпочечников фиксировались в ядрах клеток надпочечника, но не печени. Мы показали, что лишь интактные молекулы IgG, но не их Fab-фрагменты, проникали *in vivo* в орган-мишень. Более того, стероидогенный эффект интактных молекул АТ не воспроизводился их Fab-фрагментами. Таким образом, в проникновении АТ в клетки участвовал Fc-зависимый механизм. Сходные данные об Fc-зависимом пути проникновения сообщили Д. Аларкон-Сеговия и соавт. [40, 73]. Это позволяло предположить участие рецепторно-опосредованного эндоцитоза АТ в их внутриклеточном проникновении и их внутрядерный транспорт с помощью ключевых пептидных последовательностей [14, 37, 74].

Важность физиологических антиидиотипических ауто-АТ для регуляции иммунного ответа общеизвестна [52, 54]. Ранее мы неоднократно указывали на возможную регуляторную роль антиидиотипов к специфическим антиядерным АТ в изменении активности клеток [14, 17, 19, 22-24, 38] подчеркивая, что их модулирующие эффекты неотделимы от участия в процессах интернализации, так как антиидиотипический «внутренний иммунологический образ» [41, 60], имитирует структуру АГ. Последним может быть сигнальный участок белков, которые опознаются транспортно-дискриминаторными системами ядерной мембраны, благодаря чему комплекс идиотип-антиидиотип переносится в ядро. Таким образом, и сам процесс направленного транспорта АТ может осуществляться при помощи антиидиотипов. Очевидно, идиотип-антиидиотипические взаимодействия отражают общие закономерности рецепции белковых соединений.

В 1986 г. показано быстрое накопление в ядре (в течение 1,5 часов) моноклональных АТ против группы ядерных белков с высокой электрофоретической подвижностью (HMG-1). Транспорт иммунных комплексов АТ-АГ из цитоплазмы в ядро осуществлялся за счет сигнального участка молекулы HMG-1, опознаваемого ядерными системами переноса [80]. Подобный механизм был охарактеризован как «ко-транспорт». Согласно

мнению авторов, «ко-транспорт» возможен лишь в случае, если образование комплекса АТ-АГ не влияет на функцию сигнального участка ядерного белка, в противном же случае комплекс не способен проникать в ядро. В наших опытах тип свечения хроматина, обусловленного реакцией непрямой иммунофлюоресценции со специфическими АТ, как *in vivo*, так и *in vitro* был глыбчатым. Согласно существующей классификации [79], это наиболее соответствует картине флюоресценции, отмечаемой для ауто-АТ к негистоновым белкам хроматина.

Принято считать, что центральным звеном тканеспецифической регуляции экспрессии генома эукариот, являются взаимодействия регуляторных белков (факторов транскрипции) с особым образом организованными *cis*-действующими регуляторными элементами хроматина [3, 55]. Специфические черты пространственной организации регуляторных *cis*-элементов генома придаются ассоциированными с этими участками негистоновыми белками хроматина. ДНК-протеидные комплексы, в состав которых входят *cis*-элементы, функционально являются ядерными рецепторами, опосредующими влияния регуляторных белков на транскрипцию отдельных генов. Оказалось, что при иммунизации хроматином именно негистоновые тканеспецифические белки, ассоциированные с этими рецепторными участками, являются наиболее иммуногенными [5]. Все это позволило предположить, что специфические АТ осуществляют свой регуляторный эффект, воздействуя именно на хроматиновые негистоновые белки. Действительно, в составе стероидогенных IgG мы не обнаружили АТ к гистонам, зато присутствовали АТ к тканеспецифическим и нетканеспецифическим негистоновым белкам хроматина, причем первые доминировали на малых и средних сроках иммунизации, а вторые - при длительной иммунизации [9, 14].

Можно предположить ряд механизмов стимулирующего влияния АТ к *cis*-регуляторным элементам хроматина на синтез гормонов. *Во-первых*, связываясь с АГ регуляторных участков хроматина, АТ могут выполнять сигнальные функции, имитируя эффекты биорегуляторов (транс-агентов). *Во-вторых*, в ядрах АТ могут сенсibiliзировать рецепторные участки для взаимодействия с иными сигналами, усиливая действие последних, или, напротив, менять конформацию рецепторного участка, так, что связывание с биорегулятором становилось невозможным. *В-третьих*, нельзя отрицать возможности конкуренции неиммунологического лиганда и специфических АТ за рецепторные участки, снимающей репрессорные эффекты биорегулятора (известно, что биорегуляторы осуществляют двойное действие на экспрессию генов - как позитивное, так и негативное). Очевидно, что реализация любого из перечисленных механизмов ведет к результату, вектор которого определяется видом контроля, характерным для данного гена [14].

Показано, что АКТГ-индуцированная активация стероидогенеза в коре надпочечников сопровождается синтезом короткоживущих белков, усиливающих экспрессию тканеспецифических генов, в частности – так называемого стероидогенного острорегулирующего белка – СОРБ [47, 61]. Учитывая данные о непосредственном механизме действия антинуклеарных АТ на стероидогенез [34], уместно предположить, что антихроматиновые АТ способны оказывать эффект, сходный с подобными лабильными ключевыми белковыми регуляторами, и, соответственно, рассматривать первый из представленных выше механизмов как наиболее вероятный [37].

Для доказательства принципиальной возможности дерепрессивного влияния АТ-регуляторов на считывание генетической информации в клетках важно было охарактеризовать их действие на процессы включения H^3 -уридина в РНК клеток-мишеней. С этой целью мы предприняли *in vivo* гистоавторадиографические исследования сравнительного влияния АКТГ, преиммунных IgG и специфических анти-ДНК-протеидных АТ на синтез РНК в адренокортикоцитах пучковой зоны [36-38]. Была показана стимуляция синтеза РНК в клетках-мишенях, под влиянием специфических АТ в сроки, непосредственно предшествующие реализации их стероидогенного эффекта. Для изучения влияния

антиядерных АТ на биосинтез ДНК и пролиферацию клеток-мишеней мы применили автордиографию с H^3 -тимидином. В одни и те же часы суток *in vivo* изучалось распределение H^3 -тимидиновой гистоавтордиографической метки и митотический индекс в разных зонах коры надпочечников у интактных крыс и животных, предварительно получавших (за 1–8 час) АКТГ, преиммунные IgG, либо АТ к разным ядерным АГ адreno-кортикоцитов (IgG к ДНК-протеину, ядерному матриксу или к цельным клеточным ядрам; все специфические IgG обладали стероидогенными эффектами). АКТГ при однократном введении не оказывал митогенного эффекта (его митогенное действие проявлялось лишь при многократных инъекциях и в сроки более 12 час). В отличие от этого, специфические IgG против антигенов, содержащих ДНП, оказывали митогенный эффект, синхронизированный со стимуляцией стероидогенеза, то есть относящийся к срокам 1–4 час. АТ к ДНП через 1–4 ч после инъекции повышали индекс первично меченых ядер, в основном, в клубочковой зоне, а АТ к ядрам через 1–8 ч повышали митотический коэффициент, преимущественно, в пучковой зоне. При трехдневном введении специфических IgG к ДНП (но не АКТГ) отмечалась гиперплазия надпочечников. Стимуляция ДНК-полимеразной активности в ядрах клеток коры надпочечников под действием специфических IgG, была также воспроизведена *in vitro* в исследовании с включением тимидиновой метки изолированными ядрами клеток-мишеней [9, 14]. Показательно, что IgG к ядрам, частично лишенным ДНП («антигены ядерного матрикса»), будучи стероидогенными, оказывали выраженный *антимитогенный* эффект. Их присутствие в сыворотках, полученных при иммунизации цельными ядрами, снижало митогенные потенции антиядерных IgG в сравнении с пролиферативным действием АТ к изолированному ДНП.

Специфические IgG к ДНП существенно увеличивали включение H^3 -уридина как в ядерную, так и цитоплазматическую РНК клеток коры надпочечников, по сравнению с действием преиммунных IgG, опережая по срокам и интенсивности этого эффекта влияние АКТГ. Существенно различались распределение метки над различными отсеками ядра и детали ядерной ультраструктуры при действии АКТГ и Ig к ДНП [38]. Накопление уридиновой метки в клетках коры надпочечников под действием IgG к ДНП можно было расценивать как косвенное свидетельство усиления синтеза определенных РНК. Различия в характере распределения метки и в ультраструктуре ядер между животными, получавшими АКТГ и стероидогенные IgG, могли отражать механизмы стимуляции стероидогенеза гормоном и АТ, отличающиеся, по-видимому, на этапе опосредования сигнала внутри клеток-мишеней. В целом, полученные результаты согласовывались с предположением об участии процессов транскрипции в реализации гормоностимулирующих эффектов АТ.

Клинико-лабораторные данные свидетельствуют о том, что при аутоиммунных эндокринопатиях АТ влияют не только на функции, но и на пролиферативные процессы в органах-мишенях [17, 52]. Поэтому нам представлялось важным изучить взаимосвязь повышения концентрации ц-ГМФ и митогенной активности в коре надпочечников животных, которым многократно вводились антиядерные IgG. Отметим, что эффекты гормональной стимуляции, сопровождающиеся пролиферацией клеток-мишеней, нередко предусматривают повышение концентрации ц-ГМФ [24, 70]. Оказалось, что стероидогенные IgG, в отличие от АКТГ, не вызывают раннего прироста концентраций ц-АМФ в гомогенатах адrenoкортикоцитов, в то же время уровень ц-ГМФ несколько возрастал [10, 14]. Л.П. Чуриловым [36] были изучены митогенные эффекты, оказываемые, поликлональными IgG полученными к разным АГ клеточных ядер. Напомним, что серологические исследования показали наличие в составе IgG АТ как к органоспецифическим, так и к неорганоспецифическим АГ хроматина. Высокий титр IgG был необходимым, но не достаточным условием стероидогенной активности (видимо, не все популяции IgG из состава поликлональных сывороток действуют на механизмы стероидогенеза). Так как стимуляция стероидогенеза была присуща специфическим IgG всех трех сравниваемых

разновидностей (к ДНК-протеиду, ядерному матриксу или к цельным клеточным ядрам), можно полагать, что АГ, взаимодействие с которыми обуславливает стероидогенный эффект, сохраняются в составе ядер, частично лишенных ДНП, и, возможно, относятся к ядерному матриксу. Разные стероидогенные IgG неодинаково влияли на пролиферацию клеток коры надпочечника: IgG к ДНП и к цельным ядрам были митогенны, а IgG к ядерному матриксу - наоборот, антимитогенны. Можно полагать, что стероидогенный и митогенный эффекты обусловлены взаимодействием разных популяций АТ поликлональных сывороток с различными АГ-мишенями ядер. Т.к. все IgG вводились в одинаковой дозе, наличие подавляющего, либо стимулирующего эффекта на клетки-мишени определялось не дозой, а специфичностью АТ. Прежние классические представления о дозозависимом характере действия цитотоксинов [32], вероятно, объясняются тем, что лишь высокая доза любой полиспецифической сыворотки содержит эффекторно значимое количество АТ, представленных в сыворотке в низкой концентрации. Характерно, что при болезни фон Базедова, зобогенные и тироеид-стимулирующие эффекты антитиреоидных ауто-АТ относятся к разным по специфичности АТ [24, 52].

Развивая эти представления, мы попытались разделить разные по специфичности компоненты антиядерных IgG и воспроизвести их биологические эффекты с помощью моноклональных АТ (М-АТ). Мышей иммунизировали ДНП ядер адренокортикоцитов крыс и получали разные клоны гибридом-продуцентов М-АТ против неидентичных АГ хроматина. Были отобраны три клон, продуцирующих М-АТ класса IgG к АГ ДНП. Далее сравнивалось влияние этих М-АТ а также М-АТ к бромдезоксигуанидин-ДНК (Br-ДНК) на продукцию различных кортикостероидов у крыс *in vivo*. Контролем служили интактные животные и крысы, получавшие культуральную среду без АТ или физ. раствор. Оказалось, что стероидогенными являются все изучавшиеся М-АТ, однако, их стероидогенные потенции были не идентичны. Так, продукция тестостерона стимулировалась М-АТ к Br-ДНК, но не стимулировалась ни одним из М-АТ к эпитопам ДНП, оставаясь примерно на том же уровне, что и у контрольных животных. Влияние изучаемых М-АТ на содержание кортизола в плазме крови животных было иным. Спустя 4 часа после *в/в* введения М-АТ к компонентам ДНП, секретлируемые клономы NN 1 и 2, в 7–8 раз повышали уровень кортизола в крови крыс, по сравнению с интактными; и 2-кратно - по сравнению с получавшими физ. раствор. Менее активны были М-АТ к ДНК, а М-АТ клон N 3 не проявляли кортизол-стимулирующей активности [17, 19, 83-85].

Таким образом, применение моноклональной технологии значительно увеличило возможности детализации комплексных биологических эффектов, присущих поликлональным цитостимулирующим АТ. По нашему мнению, именно путём применения М-АТ можно приблизиться к решению поставленной на заре развития учения о цитотоксинах задаче [33] по использованию специфических АТ, как тонких амбивалентных цитологических инструментов управления машинерией клеток.

Прошло более 40 лет после начала описываемых нами исследований, результаты которых, казалось бы, поколебали и догму о «невозможности внутриядерного проникновения АТ», и догму об «исключительно повреждающем действии аутоиммунитета». Но всё ещё доминирует направление поисков, основанное на использовании специфических АТ для избирательного выключения, торможения, ускорения гибели клеток [50], а не с целью стимуляции генетически детерминированных процессов. В недавних обзорах [66, 74] содержатся многочисленные примеры супрессии клеточных функций и пролиферации, либо индукции клеточной гибели АТ и ауто-АТ *in vivo* и *in vitro*, в том числе, при их внутриклеточном и внутриядерном проникновении. В иммуноглобулинах видят лишь переносчики для внутриядерного транспорта лекарств, ферментов, токсинов, радионуклидов; или средства ранней диагностики грядущих аутоиммунных болезней [65]. Между тем, работа, показавшая снятие блока трансляции в лизате ретикулоцитов с помощью АТ к ее репрессору [53] - чуть ли не единственный пример исследования, навеянного той логикой, к которой привели нас описанные результаты. В последнее время

получены данные о том, что нейтрализующие АТ к фракции негистоновых белков хроматина, в частности – белку НМGB-1, секретируемому клетками иммунной системы при воспалении, снижают смертность при некоторых шокоподобных состояниях [62]. Столь же значимы данные А.Б. Полетаева и соавт. [67] о корреляции между ускорением клинического улучшения у больных, перенесших ишемический инсульт и продукцией определенных нейротропных ауто-АТ, способствующих регенерации. Однако, вне зависимости от нашей способности воспроизвести те или иные звенья такой регуляции в эксперименте или зарегистрировать ее проявления в клинике, в естественных условиях клональные процессы обеспечивают решение сходных задач посредством физиологической иммуноглобулиновой (аутоиммунной) регуляции клеточных функций.

Исходя из представлений об идиотип-антиидиотипических взаимодействиях, согласно которым некоторые антиидиотипы способны замещать антиген в структурном и функциональном отношениях и даже имитировать, либо блокировать его биологические эффекты [14, 18, 19, 41, 52, 68], можно допустить наличие *специальной физиологической системы иммуноглобулиновой регуляции, играющей ведущую роль во всем контроле онтогенеза, включая клеточные рост и сигнализацию.*

Одним из подтверждений этой гипотезы являются результаты наших исследований, доказавшие присутствие в плазме крови всех исследованных интактных крыс АГ, серологически идентичных ДНП коры надпочечников, равно как и АТ, комплементарных к этим АГ. Упомянутые АГ взаимодействовали в реакции Ухтерлони со стероидогенными IgG из состава анти-ДНП сывороток. Они сохранялись в сыворотке крови животных с удаленными надпочечниками и гонадами, по крайней мере, в течение 7 суток после операции. Введение гидрокортизона не приводило к их исчезновению из плазмы крови; при осаждении белков плазмы сульфатом аммония АГ осаждались в составе глобулиновой фракции, что может свидетельствовать об их иммуноглобулиновой природе [17, 19, 85].

Серологическая и структурная идентичность регуляторных молекул широко распространена в организме повсюду, где имеются проявления комплементарной регуляции, например, между ядерными АГ и Fc-фрагментом Ig [39]. Лимфоциты способны вырабатывать и цитокины, и гормоны гипофиза [43]. Тетрапептид тафтсин из состава Fc-фрагментов Ig обладает рядом гормоноподобных эффектов и обнаруживается в структуре многих биорегуляторов, действующих в иммунной и нейроэндокринной системе [35]. Двустороннее информационное взаимодействие между нейроэндокринной и иммунной системами контролирует иммунные ответы и гомеостаз [59], причем в образовании иммуносинапсов и нейросинапсов задействованы гомологичные или идентичные распознающие молекулы [64]. Имеются наблюдения о регуляторных эффектах АТ к нейромедиаторам и гормонам [1]. Как уже упоминалось, антиидиотипические АТ способны имитировать структуру и биологическую активность медиаторов и белковых, аминокислотных или стероидных гормонов, конкурируя с биорегуляторами за их рецепторы [14, 41, 66, 68, 76]. Поверхностные АГ соматических клеток, включая мембранные рецепторы, входят в сеть идиотип-антиидиотипических взаимодействий [31], при этом так называемые «гомотела» [60] способны замещать в регуляторных взаимодействиях гормоны и медиаторы. Ряд авторов, начиная с [70], усматривают аналогию между многими поверхностными и ядерными структурами, приписывая белковым биорегуляторам двойной (дистантный и ядерный) механизм действия.

Ввиду доказанной доступности генома эндокриноцитов и других моделей для иммуноглобулиновых сигналов, представляется необходимым *распространить принцип физиологической регуляторной сети идиотип-антиидиотипических взаимодействий не только на циркулирующие и поверхностные рецепторы лимфоцитов, но также на комплементарные молекулы всех соматических клеток и, в особенности, на сигнальные и распознающие элементы их генетического аппарата.* По нашему мнению, иммунонейроэндокринная регуляция генетически детерминированных клеточных функций тесно

координирована. В пределах обеих систем, основанных на комплементарном регуляторном взаимодействии, имеются структурно и функционально сходные биорегуляторы. В связи с этим, не исключено, что вышеописанная фракция сыворотки интактных крыс, антигенно сходная с ДНП, представлена как раз естественными аутоантиидиотипическими АТ против собственных иммуноглобулинов к ДНП. Антихроматиновые ауто-АТ ранее обнаруживались в норме [5, 23]. С нашей гипотезой соотносится и обнаружение [86] в сыворотке как у больных системными аутоиммунными заболеваниями, так и у здоровых индивидов, не только ауто-АТ к ДНК, но и аутоантиидиотипов к этим ауто-АТ. Результаты наших исследований и анализ данных литературы позволяют предполагать, что в изменении параметров функциональной и пролиферативной активности клеток разных эндокринных желез ключевая роль принадлежит именно иммуноглобулинам [14, 83-85]. Более того, наличие АТ к определенным ядерным АГ, очевидно, необходимо для нормальной функции органов. Это подкрепляется множеством примеров наличия в физиологических условиях ауто-АТ к самым разным интактным ауто-АГ, в том числе и ядерным [4, 22-24, 66, 68-69].

Системы, контролирующие рост, развитие и старение организма и его составляющих должны, прежде всего, увязывать последовательность и интенсивность считывания и реализации генетической информации в различных клетках. Эта задача не может быть решена ни нервными механизмами, ни гормональными агентами, ускоряющими или замедляющими обменные процессы. Нейротрансмиттерам, гормонам и их рецепторам не хватит для этого онтогенетической и событийной вариабельности, а производящим их клеткам - необходимой мобильности и всеохватной рассредоточенности, то есть именно тех качеств, которые присущи иммунной системе.

Генетически детерминированные процессы, определяющие зрелость регуляторных и метаболических систем на каждом этапе развития организма должны происходить в различных органах и тканях координированно. Они не могут осуществляться в противоречии с вселенским «законом отражения». Зеркалом при динамическом поддержании индивидуальной самоидентичности служит система аутоиммунитета, способная к универсальному индуцируемому воспроизведению комплементарных молекул. Сеть идиотип-антиидиотипической регуляции включает в себя рецепторы гормонов, аутоакоидов и медиаторов, а также аутоантиидиотипические АТ к биорегуляторам, которые, в свою очередь, являются зеркальным «внутренним иммунологическим отображением» своих лигандов [14, 18-19]. Биорегуляторы, вырабатываемые иммунной системой, выполняют, по нашему мнению, функцию «указующего перста» в процессах координированной экспрессии генов различных клеток организма. Аутореактивные молекулы могут играть роль репрессоров и, наоборот, дерепрессоров определенных участков генома, не допуская дискоординации дифференцировки и десинхронизации старения различных органов и тканей. Очевидно, взаимодействие АТ с информационными системами стволовых клеток определяет направленность процессов их дифференцировки на протяжении всего жизненного цикла, начиная с пренатального периода онтогенеза.

Итак, физиологический аутоиммунитет обеспечивает синхронизацию и взаимную настройку считывания генетической информации в разных клетках целостного организма на всем протяжении жизни.

Но полностью ли современное медико-биологическое мышление освободилось от старых догм, чтобы руководствоваться этой новой парадигмой?

Литература

1. Ашмарин И.П. В кн.: Естественный аутоиммунитет в норме и патологии. Тез. докл. 1-й московской международной конф. (п/ред. А.Б. Полетаева) М.: Иммунокулус, 2005., 44-45.
2. Богомолец А. А, Русск. врач, 1909, 29. 972—978.
3. Газарьян К.Г., Тарантул В.З. Онтогенез.-1985.16. 325-345.
4. Грабар П. Н. Онтогенез,—1975, 6, 115-126.
5. Ермекова В.М. Усп. соврем. биол.-1984. 98. 3-13.
6. Зайчик А, Ш. Патол. физиол. и эксперим. терап., 1981, 25, 46-55.

7. Зайчик А.Ш., Перельман Л.Р. Цитотоксины в совр. медицине. Киев, 1966, 3, 100-106.
8. Зайчик А. Ш., Патол. физиол. эксперим. терап. 1969, 13, 52-55.
9. Зайчик А. Ш., и др. В кн.: Системно-антисистемная регуляция функций в норме и патологии (Адо А.Д., Антоненко В. Т.) Киев, 1987, 69-71.
10. Зайчик А. Ш. и др. Физиол. журн. СССР, 1985, 71, 136-147.
11. Зайчик А. Ш. Патол. физиол. эксперим. терап. 1979, 22, 22-26.
12. Зайчик А. Ш. Патол. физиол. эксперим. терап., 1971, 15, 37—41.
13. Зайчик А. Ш. Патол. физиол. эксперим. терап. 1973, 17, 40—43.
14. Зайчик А.Ш. (ред.) и соавт.- Иммунологическая регуляция клеточных функций. Л. ЛПМИ. 1988.
15. Зайчик А.Ш. Цитология.1978, 20, 22-26.
16. Зайчик А.Ш. Цитология.-1980, 22, 578-580.
17. Зайчик А.Ш.и др. В кн.: Избранные лекции ведущих ученых Мед. фак-та Санкт-Петербургского гос. ун-та. СПб: СПбГУ, 2005, 12-27.
18. Зайчик А.Ш., Утехин В.И., Чурилов Л.П. В кн.: Патофизиология инфекционного процесса. Саратов : СГМИ, 1991, 31-38.
19. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Клин. патофизиол. (С. Петербург).2002, № 2, 8-17.
20. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. В кн.: Общая и клиническая патофизиология. (ред. В.Ю. Шанин). СПб.: НПЦ Техноторф, 1999, 39-47.
21. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Усп. соврем. биол. Л., АН СССР, 1982, 93, 448-465.
22. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Ч. I. Основы общей патофизиологии. СПб: ЭЛБИ-Спецлит, 1999.
23. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патофизиология. Т. I. Общая патофизиология с основами иммунопатологии. Изд. 3-е. СПб: ЭЛБИ, 2005.
24. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патофизиология. Т. II. Патохимия. Эндокринно-метаболические нарушения. Изд. 3-е. СПб: ЭЛБИ, 2007.
25. Кульберг А. Я. Регуляция иммунного ответа. М. Медицина.1986.
26. Лондон Е. С. Архив биол. наук, 1901, 9, №1, 82—127.
27. Мартынов Л.Н. В кн.: Советская поэзия. В 2-х томах. БВЛ. Сер. 3, т.2., М.: Худ. Лит, 1977, с. 403.
28. Мечников И. И. Русск. арх. патол., клин. мед. и бакт.-1901, 11, № 2, 101 с.
29. Мечников И. И. Вестник Европы.1902. 6.№ 12, 772—799.
30. Нейман И.М. В кн.: Цитотоксины в соврем. медицине.1966. вып. 3. 5-11.
31. Нестеренко В. Г. Итоги науки и техн., сер. Иммунология, М., 1984.- № 13.-217-236.
32. Перельман Л.Р. В кн. Руководство по патол. физиологии. М.:Медицина, 1966. Т.1, 430-449.
33. Сахаров Г.П., Российский Д.М. Врач. дело. 1935, 9, 751-756.
34. Хмельницкий О. К., Зайчик А. Ш., Зубжицкий Ю. Н. Арх. патол., 1983., 45, 82-89.
35. Чипенс Г. С. Итоги науки и техн. Сер. иммунол.—М.: ВИНТИ, 1984, № 13, 54-64.
36. Чурилов Л. П. В кн.: Механизмы регуляции физиологических функций. Л.,1985, 112.
37. Чурилов Л. П. Цитогенетические механизмы стимулирующего действия специфических иммуноглобулинов на стероидогенез в клетках коркового вещества надпочечников. Л.: Дисс. к.м.н., 1986.
38. Чурилов Л.П. В кн.: Иммунологическая регуляция клеточных функций. Л.: ЛПМИ, 1988, 37-48.
39. Agnello V, New Horizons in Rheum. Arthr., Amsterdam, 1981, p. 8-15.
40. Alarcon-Segovia D, Ruiz-Argüelles A. Fishbein E. Nature, 1978, 271, 67-68.
41. Augustin A. A., Sim G, K., Bona C. A. Surv, Immunol, Res., 1983, 2, 78-87.
42. Besredka A.M. Ann. Inst. Pasteur.- 1901, 15, 758 –63.
43. Blalock J.E. J. Immunol., 1984, 132, 1067-1070.
44. Bost K.L., Blalock J.E. Viral. Immunol., 1987, 2, 229-238.
45. Couraud P.O., Strausberg A.D. Biochem.Soc. Trans.1991, 19, 147-151.
46. Daunter B. Med. Hypotheses.-1991, 36, 75-89.
47. Dazord A. Ann. Endocrinol. 1983, 44, 15-28.
48. Dixon F. J. In: Res. Frontiers in Ageing and Cancer, Proc. Internat. Symp. Washington 1980. Natl. Cancer. Inst. Monogr. 1982, 60, 181-190.
49. Donath J., Landsteiner K. Münch. Medizin. Wschr., 1904, 51, 1590-1593.
50. Dübel S. (Ed.) Handbook of therapeutic antibodies. N.Y. a. e.:Wiley WCH, 2007.-1228.
51. Ehrlich P., Morgenroth J.V. Mitteilung. Berl. Klin. Wschr.-1900.-v.37.-pp.453-458.
52. Farid-Nadir R., Linticum D.S. Anti-Idiotypes, Receptors and Molecular Mimicry. 1988. Springer Verl., N.Y.
53. Gross M., Redman R. Biochim Biophys Acta. 1987, 908, 123-130.
54. Jerne N. K. Ann. Immunol. 1974, 125, 373-389.
55. Johns E.W. The HMG-chromosomal proteins.- London: Acad. Press, 1982.
56. Kahri A. Acta Endocrinol.-1966,108, 1-96.
57. Kay M. M. B. Biomembranes. 1983, 2, 119-156.
58. Kohler H., Muller S., Brown Th. L., Zhao, Yunfeng, Morgan-jr A.C. Trans-membrane-antibody induced inhibition of apoptosis. (EuroPatent) Application: 2424/CHENP/2005 A, Publication date: 2007-08-31 Applicant: Innexus Biotechnology, INC.

59. Korneva H.A., Fleugel A., Tkachenko B.I. (eds) Interaction of Nervous and Immune Systems in Health and Disease. Intern. Symposium. St. Petersburg, May 31st-July 2nd, 2007. St.Petersburg : ElBi Publ., 2007, 95.
60. Lindenmann J. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), 1979, 130, 311-318.
61. Manna P.R., Stocco D.M. Curr. Drug Targets - Immune, Endocrine & Metab. Disorders. 2005, 5, 93-108
62. Mantell L.L., Parrish W.R., Ulloa L. Shock, 2006, 25, 4-11.
63. Metchnikoff E., Rue E. Berliner Klin. Wschr. 1914, 11, 523-531.
64. Norcross M.A. Ann. Immunol. (Paris). 1984, 135D, 113-134.
65. Notkins A.L. Sci. Amer. 2007, 3, 72-79.
66. Poletaev A., Osipenko L. Autoimmunity Rev. 2003, 2, 264-271.
67. Poletaev A.B., Abrosimova A.A., et al. Clin. & Develop. Immunol. 2004, 11, 151-156.
68. Poletaev A.B., Stepanyuk V.L. Gershwin M.E. J. of Autoimmunity. 2008, 30, 68-73.
69. Petrany G. Órv. Hetilap. 1983, 24, 2163-2167.
70. Rasmussen H. In: Function. Regulat. on Cell. & Molecul. Levels. N. Y. a. e. 1982. 402-406.
71. Roos A., Sato T., Maier H., van Kooten C., Daha M. R. Exptl. Nephrol. 2001, 9, 65-70.
72. Rosenkrantz H.S. et al. Science, 1964, 145, 282.
73. Ruiz-Argüelles A., Alarcon-Segovia D. In: Conrad K, Humbel RL, Meurer M, Shoenfeld Y, Tan E.M, eds. Update Clin. Immunol. 1998, 9, 46-56.
74. Rüz-Argüelles A., Alarcon-Segovia D. IMAJ. 2001, 3, 121-126.
75. Seo H. et al. In: Annu. Meet. of Amer. Thyroid Assoc., Toronto. Abstracts. 1976, 187-189
76. Shechter Y. et al. J. Cell. Biochem. 1983, 21, 179-185.
77. Smith H. R., Steinberg A. D. Annu. Rev. Immunol. 1983, 1, 175-210.
78. Smith L. R., Bost K. L., Blalock J. E. J. Immunol. 1987, 138, 7-9.
79. Tan E. M. Adv. Immunol. 1982, 33, 167-240.
80. Tsuneoka M., Imamoto N.S., Uchida T. J. Biol. Chem., 261, 1829-1834.
81. Uhlenhuth P. Festschrift zum sechzigsten Gebutstage von Robert Koch. Gustav Fisher. Jena. 1903, 49-74.
82. Walker N.I. et al. In: Jasmin G (Ed.): Methods and Achievements in Experimental Pathology. Basel: S. Karger, 1988, pp.18-54.
83. Zaichik A. Sh., Churilov I. P., Kravzova A. A., Utechin V. J. In : A XVI-a Conferinta «Cercetare fiziologie clinica și experimentală».- 21-23 Oct. 1999, Craiova, Romania. p. 165.
84. Zaichik A.M., Churilov L.P., Kravtsova A.A., Utechin V.J. In: International symposium "Interaction of the Nervous and Immune Systems in Health and Disease" May 31st - June 2nd, 2007. Abstracts. St. Petersburg: ElBi Publ., 2007.- pp.88-89.
85. Zaichik A. Sh., Churilov L.P., Kravtsova A.A., Utechin V.J. In.: The 5th International Congress of Pathophysiology. June 28-July 1, 2006. Beijing, China. Chinese J. of Pathophysiology, 2006, 22, 13 (Supplement), 361-362.
86. Zouali M, Eyquem A. Ann. Immunol. 1983, 1346, 377-397.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЕЙ РЕГУЛЯТОРНЫХ АУТОАНТИТЕЛ У БЕРЕМЕННЫХ НА ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ ГЕСТОЗА

Замалеева Р.С., Черепанова Н.А., Букатина С.В.

Кафедра акушерства и гинекологии № 1 КГМА, г. Казань, Россия.

Гестоз (ГЗ) – одно из наиболее тяжелых осложнений беременности, привлекающее пристальное внимание научной и практической медицины. Однако многие вопросы его патогенеза, профилактики и доклинической диагностики остаются нерешенными. Существенную роль в возникновении ГЗ отводят иммунной системе. Ряд данных позволяют предполагать, что изменения сыровоточного содержания некоторых аутоантител (а-АТ) могут быть прогностически важными для доклинической оценки риска развития гестоза и своевременного проведения профилактических мероприятий. Исследованию этого вопроса была посвящена наша работа.

Материалы и методы. Обследовали 114 беременных, из них 37 пациенток с ГЗ при предыдущей и настоящей беременности составили Группу-1, 36 пациенток с впервые развившимся ГЗ вошли в Группу-2. В обеих группах выделяли пациенток с ГЗ легкой (n=24), средней (n=25) и тяжелой (n=24) степени. У 16 пациенток, имевших ГЗ в анамнезе, настоящая беременность не сопровождалась развитием ГЗ (Группа-3). Группу контроля составили 25 здоровых беременных. Всем беременным группы риска по развитию ГЗ назначался комплекс профилактических мер, включая водно-иммерсионную компрессию, фитотерапию, антиагреганты, при изменениях в показателях гемостаза – низкомолекулярные гепарины. С помощью твердофазного ИФА во втором триместре беременности в сыровотке крови всех женщин определяли уровни а-АТ класса IgG, к двуспираль-

ной ДНК, β 2-гликопротеину I, антиидиотипы а-АТ к β 2-гликопротеину I, к суммарным фосфолипидам (СФЛ), белку-регулятору межклеточной адгезии - МР65, белку астроглии - GFAP, белку аксонов NF-200, ферменту синтеза вазодилатора оксида азота – NO-синтетазе (NOS), хоригонадотропину (ХГЧ), Fc-фрагментами Ig (ревматоидный фактор), маркерами патологии почек (Kim 05-40), тромбоцитопатий (TrM 05-12), васкулопатий (ANCA). Уровни а-АТ -20... +20 у.е. принимали за норму, +20... +40 рассматривали как слабые отклонения, а уровни менее -40 или более +40 – как выраженные отклонения от нормы.

Результаты. Группы 1 и 2 не различались по частоте ХФПН, ЗВУР плода, ранним токсикозам, патологической прибавки веса, отслойке плаценты, преэклампсии, преждевременным и оперативным родам, асфиксия новорожденного и перинатальной смертности. В тоже время эти осложнения беременности в Группе контроля и Группе-3 (без ГЗ) встречались достоверно реже, чем у беременных Групп-1 и 2 ($p < 0,05$). В Группе-3 по сравнению с контрольной отмечена большая частота патологической прибавки массы тела и оперативных родов ($p < 0,05$). Частота преждевременных родов у беременных с ГЗ была выше при тяжелом ГЗ (у 87%) и ГЗ средней тяжести (44%), чем при легком ГЗ и в Группе-3 и контрольной. Оценка новорожденных по шкале Apgar была достоверно выше в контрольной группе. Патологические изменения в сывороточном содержании изучаемых а-АТ встречались у 94% женщин с ГЗ, тогда как у беременных контрольной группы лишь в 6% отмечались слабые отклонения в содержании нескольких а-АТ. Эти данные подтверждают, что иммунопатологический компонент имеет важное значение при ГЗ. Для половины пациенток (49%) с развившимся впоследствии ГЗ был характерен дисбаланс в содержании разных а-АТ. При этом уровень большей части а-АТ был ниже, а меньшей части – выше нормы, что указывает на патологическую активацию одних клонов лимфоцитов, сочетающуюся с супрессией других (Полетаев А.Б., 2007) и, вероятно, отражает гормональный дисбаланс (Корнева Е.А., 1988). Во II триместре у беременных с развившимся впоследствии ГЗ в 54% достоверно чаще отмечалось патологическое снижение содержания многих а-АТ. Вероятно, снижение продукции ряда а-АТ, выполняющих, по сути, «ассенизаторские функции», сопровождается избыточным накоплением в организме продуктов распада клеток, вызывает хроническую иммунометаболическую интоксикацию (Полетаев А.Б., 2007) и является важным признаком, свидетельствующим о повышении риска развития ГЗ. Изменение продукции а-АТ у беременных с последующим развитием ГЗ касались, в первую очередь, а-АТ к ДНК, МР-65 и NOS и, в меньшей степени, а-АТ к NF-200 и GFAP. Это позволяет предположить ведущую роль нарушений процессов апоптоза, адгезии клеток и регуляции сосудистого тонуса в патогенезе ГЗ всех степеней тяжести, начиная с доклинических стадий. Количество вовлеченных в процесс а-АТ разной специфичности возрастало с нарастанием тяжести гестоза. Так, при легком гестозе отмечались патологические уровни от 3 до 8 из исследуемых а-АТ, при гестозе средней степени тяжести вовлекались от 7 до 11 а-АТ, при тяжелом течении гестоза – от 9 до 12 разных а-АТ. Для большинства женщин с тяжелым (66%) и среднетяжелым (57%) ГЗ характерным был дисбаланс уровней а-АТ. Сниженные значения всех а-АТ наблюдались у (34%) пациенток. Для 59% пациенток с ГЗ тяжелой и 43% - средней степени, на фоне пониженных уровней большинства а-АТ было характерно патологическое повышение а-АТ к ДНК, СФЛ, β 2-ГП, сочетанное увеличение которых является иммунологическим признаком классического антифосфолипидного синдрома (Shoenfeld Y., 2003). Характерно, что у всех таких женщин отмечались изменения показателей гемостаза, по типу хронического ДВС-синдрома. Клинически эта часть беременных характеризовалась наиболее ранним началом ГЗ с развитием таких осложнений, как перинатальная гибель и задержка внутриутробного развития плода, повторяющаяся угроза прерывания беременности. Таким образом, некоторые типы тяжелого и среднетяжелого ГЗ могут рассматриваться в качестве варианта течения АФЛ-синдрома. Для большинства пациенток (76-96%) с ГЗ тяжелой и средней степени

были характерны выраженные отклонения от нормы а-АТ к ДНК, МР-65, NOS, СФЛ, β 2-ГП, NF-200, GFAP, а для тяжелого гестоза – еще и к ANCA. У 86% пациенток, имеющих недостаток или избыток а-АТ к ANCA, были отмечены такие осложнения беременности, как преждевременная отслойка плаценты, преэклампсия, послеродовые кровотечения. Для легкого ГЗ было характерно преобладание нормальных уровней разных а-АТ (в 49% случаев). Пониженные уровни встречались достоверно чаще (33%), чем повышенные (18%), но достоверно реже, чем при тяжелом и среднетяжелом ГЗ. Наиболее часто (в 79-87%) у беременных с развившимся впоследствии ГЗ легкой степени встречались изменения в а-АТ к NF-200, GFAP, NOS, ДНК и МР-65, находящиеся в пределах слабых отклонений от нормы. Изменение уровней а-АТ к NF-200 и GFAP в сочетании с выраженными отклонениями а-АТ к NOS, ДНК, МР-65, СФЛ, β 2-ГП и ANCA, сопровождали последующим развитием ГЗ тяжелой или среднетяжелой степени, изолированное же изменение уровней а-АТ к NF-200 и GFAP без выраженной реакции со стороны остальных а-АТ приводило в последующем к легкому течению гестоза. Масса новорожденных, родившихся от женщин Группы-1 была достоверно ниже, а заболеваемость выше, чем от женщин Группы-2, что коррелировало с достоверно большей встречаемостью патологических уровней а-АТ к β 2-ГП и анти-анти- β 2-ГП в Группе-1. Это, вероятно, свидетельствует о большей частоте встречаемости АФЛ-синдрома при повторном развитии ГЗ тяжелой степени и служит возможной причиной худших перинатальных исходов.

Таким образом, из 13 исследованных а-АТ чаще всего развитию ГЗ предшествовали отклонения от нормы со стороны а-АТ к ДНК, β 2-ГП, СФЛ, МР-65, GFAP, NF-200, ANCA, NOS. Со стороны 5 других а-АТ (к Kim-05-40, TrM 05-12, анти-анти β 2-ГП, к Fc фрагментам Ig и ХГЧ) у части беременных с ГЗ отмечались преимущественно слабые отклонения от нормы, что не исключает их роли в генезе и доклинической диагностике ГЗ, но предполагает меньшую информативность.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ АУТОАНТИТЕЛА (АНТИТЕЛА-ПРОТЕАЗЫ) ПРИ АУТОИММУНОМ ТИРЕОИДИТЕ (АИТ)

Исаева М.А., Богатырева З.И., Пономаренко Н.А., Байсугуров М.А., Габиров А.Г., Анциферов М.Б., Т. Elbeik, Сучков С.В.

Городской эндокринологический диспансер, Москва, Россия; ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия; ИИБХ РАН, Москва, Россия; Дагестанская мед. академия, Махачкала, Россия; Lab of Microbiology, UCLA, CA, LA, USA; Медицинский центр “Медстайл-Эффект”, Москва, Россия; ГКБ №81, Москва, Россия

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) относится к органоспецифическим аутоиммунным заболеваниям, важнейшим критериальным признаком которого является появление в крови антитироглобулиновых аутоантител (анти-ТГ а-АТ). К одной из таких уникальных категорий природных а-АТ принадлежат *абзимы* (а-АТ с каталитическими свойствами), которые обнаруживаются на доклинических стадиях и активно участвуют в патогенезе аутоиммунных заболеваний.

Целью работы являлась идентификация у больных с АИТ АТ-протеаз, осуществляющих специфическую деградацию ТГ.

Материалы и методы. Сыворотки крови 70 больных с различными клиническими формами АИТ и 40 здоровых доноров (ЗД) получены из АГМА, ММА им. И.М. Сеченова, МОНИКИ. Группу 1 составили 30 больных с хроническим АИТ; вторую - 30 больных с гипертрофической формой АИТ; третью - 10 больных с атрофической формой АИТ. Определение неспецифической протеолитической активности в препаратах АТ проводили с помощью флуоресцентного метода; для определения ТГ-специфической протеолитической активности фракции анти-ТГ АТ после инкубации с ТГ подвергали электрофорезу в ПААГ. Определение титров анти-ТГ а-АТ осуществляли ИФА. Неспецифическую протеолитическую активность АТ проводили с помощью флуоресцентного метода; для определения ТГ-специфической протеолитической активности

фракции анти-ТГ АТ инкубировали с ТГ, а детекцию продуктов протеолиза проводили с помощью электрофореза.

Результаты. Уровень анти-ТГ а-АТ в сыворотках больных с АИТ достоверно превышал аналогичные показатели у ЗД. Причем уровень таких АТ у больных с хроническим АИТ был выше чем у больных с гипертрофической формой заболевания. В 77% сывороток а-АТ обладали как неспецифической, так и специфической протеолитической активностью. При АИТ а-АТ к ТГ обладали специфической протеолитической активностью, варьирующей по глубине гидролиза субстрата в зависимости от клинической формы аутоиммунной патологии – при хронических АИТ преобладают низкомолекулярные фрагменты; у больных с гипертрофической и атрофической формами - деградация субстрата носит более ограниченный характер или отсутствует. При хронических АИТ отмечена наибольшая неспецифическая и специфическая протеолитическая активность. При атрофической форме АИТ в 81% АТ-опосредованная протеолитическая активность отсутствовала. Вместе с тем, в 19% случаев, несмотря на минимальные величины содержания в крови анти-ТГ а-АТ, отмечена повышенная протеолитическая активность. Появление при атрофическом АИТ АТ-протеаз может указывать на обострение заболевания, о чем косвенно свидетельствует рост сывороточных титров а-АТ IgM-изотипа. Не исключено, что активация аутоиммунного воспаления железы происходит с участием механизмов АТ-опосредованной цитотоксичности, занимающей важное место в патогенезе АИТ. По-видимому, феномен каталитического гидролиза ТГ а-АТ является весьма критериальным признаком индукции процессов деградации ткани железы при хронически-рецидивирующем АИТ.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ИММУНОТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Камынина А.В., Вольпина О.М.,*Медвинская Н.И.,*Александрова И.Ю., Шалгунов В.С.,Волкова Т.Д.,Короев Д.О.,*Самохин А.Н.,*Валеева О.А.,*Бобкова Н.В.

*ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; *Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия*

Болезнь Альцгеймера (БА) – нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся прогрессирующим снижением интеллекта, расстройством когнитивных функций и памяти и изменением поведения. Заболевание сопровождается массовой гибелью нейронов, в основном, в коре и гиппокампе больных. Современные методы лечения БА носят симптоматический характер и в основном представлены ингибиторами ацетилхолинэстеразы, имеющими ряд недостатков. Поэтому остается актуальным поиск новых методов терапии БА.

На биохимическом уровне БА сопровождается формированием амилоидных бляшек в мозгу пациентов. Главную роль в формировании бляшек и гибели нейронов играют пептиды β -амилоидного ряда, в частности, β -амилоид (1-42). При БА отмечается также поражение холинэргической системы, а именно уменьшение количества $\alpha 7$ -субъединицы ацетилхолинового рецептора (АХР) на поверхности нейронов в разных отделах головного мозга. Один из предполагаемых механизмов развития заболевания заключается в том, что β -амилоид (1-42) с высокой аффинностью связывается с $\alpha 7$ -субъединицей АХР и проникает внутрь нейрона, приводя к лизису клетки и к формированию на ее месте амилоидной бляшки [D'Andrea M.R., 2002].

Мы предположили, что антитела (АТ) к $\alpha 7$ -субъединице АХР могут препятствовать связыванию β -амилоида с рецептором и, таким образом, предохранять нейроны от гибели [Вольпина О.М., 2008]. В качестве иммуногенов для выработки специфических АТ мы использовали синтетические фрагменты экстрацеллюлярного домена альфа7-субъединицы АХР. Моделью БА служили мыши с удаленными обонятельными луковицами. Бульбэктомированные (БЭ) животные после операции демонстрировали все признаки БА, а именно, накопление бета-амилоида в мозгу, формирование амилоидных бляшек, гипофункцию холинэргической системы и потерю пространственной памяти. Исследования, проведенные на БЭ мышках, подтвердили гипотезу о протективном дейст-

вии иммунизации пептидными фрагментами альфа7-субъединицы АХР на состояние пространственной памяти животных в модели БА. Иммунизация БЭ мышей фрагментами альфа7-субъединицы АХР приводила к улучшению пространственной памяти у 20% мышей, иммунизированных пептидным фрагментом (I) экспонированного участка альфа7-субъединицы АХР последовательности 1-23, конъюгированным с гемоцианином улитки, у 50% мышей, иммунизированных фрагментом (II) альфа7-субъединицы, сшитым из двух участков последовательности 159-168 и 179-188, также конъюгированным с белком-носителем, и у 82% мышей, иммунизированных фрагментом (III) последовательности 173-193 в свободном виде. У контрольных ложнооперированных мышей (ЛО), наблюдалось снижение обучаемости при иммунизации конъюгатами пептидов (I) и (II). При иммунизации свободным пептидом (III) негативного эффекта на ЛО мышах не наблюдалось.

На следующем этапе исследований было важно доказать, что, во-первых, терапевтический эффект на память бульбэктомированных животных вызван специфическим иммунным ответом на фрагменты альфа7-субъединицы АХР и, во-вторых, что терапевтическое действие на состояние пространственной памяти мышей в экспериментальной модели БА оказывают противопептидные АТ. Для доказательства специфичности действия иммунизации фрагментами альфа7-субъединицы АХР были исследованы мыши, иммунизированные четырьмя разными контрольными соединениями: белком-носителем, глицином, конъюгированным с гемоцианином улитки, и двумя пептидами из последовательности других, неэндогенных белков: фрагментом белка VP1 вируса ящура, конъюгированным с гемоцианином улитки, и фрагментом белка PоgA из менингококка – в свободном виде. Выявлено, что все четыре контрольных соединения не улучшали состояние пространственной памяти у БЭ мышей и не ухудшали у ЛО, что доказывает терапевтическое действие иммунизации фрагментами альфа7-субъединицы на память БЭ животных.

Согласно нашему предположению, мишенью для противопептидных АТ является АХР альфа7-типа нейронов мозга. При анализе уровня АТ в спинномозговой жидкости БЭ иммунизированных мышей было обнаружено высокое содержание АТ к фрагментам альфа7-субъединицы АХР во все трех группах, что доказывает их прохождение через гематоэнцефалический барьер. Специфическое действие АТ на состояние памяти БЭ мышей было показано в экспериментах следующих экспериментах. БЭ мышам вводили аффинно очищенные поликлональные АТ к фрагменту (II), и затем обучали и тестировали животных на наличие пространственной памяти. Мыши демонстрировали улучшение пространственной памяти после иммунизации, что подтверждает антиамнестическое действие именно противопептидных АТ.

Одним из признаков развития БА является повышение содержания бета-амилоида в мозгу больных. Поэтому далее было исследовано влияние иммунизации фрагментами альфа7-субъединицы АХР на уровень бета-амилоида в образцах мозга животных. Было показано, что в результате иммунизации конъюгатами фрагментов (I) и (II) и пептидом (III) в свободном виде уровень бета-амилоида понижался по сравнению с контрольными, иммунизированными гемоцианином улитки БЭ мышами. Самое низкое содержание бета-амилоида (9,95 нг) было в группе мышей, иммунизированных пептидом (III). Исследование тканей мозга контрольных ЛО животных, показало, что иммунизация конъюгатами пептидов (I) и (II) не приводит к изменениям в содержании бета-амилоида в мозгу – уровень его находится в пределах нормы (4-6 нг/г ткани). Однако, у ЛО мышей, иммунизированных пептидом (III), отмечалось незначительное увеличение количества бета-амилоида в мозге по сравнению с контролем до 11,73 нг. В результате была выявлена корреляция между обучаемостью БЭ животных и содержанием бета-амилоида в мозгу. У мышей, иммунизированных пептидом (III), был наибольший процент обучившихся (82%) животных и наименьший уровень бета-амилоида в мозгу. Таким образом, показано, что, иммунизация синтетическими фрагментами альфа7-субъединицы АХР оказыва-

ет терапевтическое действие на состояние пространственной памяти мышей в экспериментальной модели болезни Альцгеймера. Было подтверждено, что эффект иммунизации вызван действием АТ к фрагментам альфа7-субъединицы АХР. Пептид (III) (173-193) представляется наиболее перспективным для разработки на его основе терапевтических средств для лечения болезни Альцгеймера. В настоящее время изучается механизм терапевтического действия соответствующих АТ.

СОДЕРЖАНИЕ КАРДИОСПЕЦИФИЧЕСКИХ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЯМИ РИТМА И ПРОВОДИМОСТИ

М.Г.Кантемитрова, Я.В.Луценко

Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Различные нарушения сердечного ритма и проводимости (НСРиП), имеющие склонность к хроническому течению, весьма распространены в детской популяции. Большинство аритмий возникает у детей без органического поражения сердца, при этом изменения электрофизиологических свойств миокарда обусловлены нарушениями вегетативной регуляции сердечного ритма, метаболическими изменениями, особенностями развития проводящей системы сердца, малыми сердечными аномалиями. Кроме этого, НРСиП могут быть следствиями иммунно-воспалительного и дистрофического процесса, затрагивающего как сократительные, так и проводящие элементы миокарда. Имеются данные об участии аутоантител (аАТ) к антигенам проводящей системы сердца, к клеткам синусового узла, к адрено- и холинорецепторам в развитии сложных аритмий. Повышение титров антикардиальных аАТ не всегда является признаком воспалительного процесса, а может отмечаться также на фоне дистрофических изменений в миокарде и любой формы его ремоделирования.

Цель исследования: изучить сывороточное содержание ряда кардиоспецифических аАТ у детей с НРСиП с учетом возрастного аспекта и характера аритмий.

Материалы и методы. Обследовались дети в возрасте от 2 до 16 лет (n=85). Из них с различными НРСиП было 77 пациентов (экстрасистолии (n=25), гетеротопные тахиаритмии (n=13), синдром слабости синусового узла (n=17), синдром удлиненного QT (n=7), полная блокада правой ножки пучка Гиса (n=5), А-V блокада 1-2 ст. (n=5), феномен WPW (n=2), хроническая синусовая тахикардия (n=2), мерцательная аритмия (n=1). Выраженные ST-T нарушениями различного генеза (n=8). Все дети разделены на три возрастные группы: от 2-х до 6 лет (n=18), 7-10 лет (n=21), 11-16 лет (n=46). В сыворотке крови детей с помощью ИФА и использованием тест-систем ЭЛИ-Кор-ТЕСТ (МИЦ «Иммункулус» Россия) определяли аАТ класса IgG к антигенам миокарда: растворимому цитоплазматическому белку (COS-05-40), мембранному белку (COM-015-15), бета-адренорецепторам (б-AR), и N0-синтетазе (NOS).

Результаты. Из всех обследованных, лишь у 4 детей (5,2%) показатели всех аАТ соответствовали возрастной норме. У 24 (31,2%) детей отмечалась гиперпродукция, у 50 (64,9%) - угнетение выработки одного и более видов аАТ. Разнонаправленные изменения в спектре аАТ с гиперпродукцией одного из показателей на фоне угнетения других были выявлены у 5,2% пациентов. Гиперпродукция чаще всего касалась АТ к COS-05-40 (22,4% детей) и б-AR (15,3%). Причем аАТ к б-AR в 2 раза чаще выявлялись у детей до 6 лет. Аномально низкое содержание аАТ чаще всего касалось аАТ к мембранному белку COM-015-15. В целом частота аномалий в содержании аАТ к COM-015-15 у детей с аритмиями составила от 15 до 22,3% (относительно всех измерений аАТ в подгруппах) и была значительно выше, чем у детей с ST-T изменениями (9,4%). Это может свидетельствовать о сарколемальных или субсарколемальных изменениях у детей с аритмиями. Преобладание угнетения продукции аАТ к COM-015-15 может указывать на большую вероятность функционального, метаболического, чем структурного характера этих изменений. Гиперпродукция аАТ чаще всего встречалась среди детей с гетеротопными тахиаритмиями (19,2% от всех измерений аАТ в этой группе) и ST-T нарушениями (15,6%), а наиболее редко - при нарушениях проводимости (ПБПНПГ и А-V блокада - по

5%), однако средние показатели уровней аАТ были ниже (12,5), чем при ST-T нарушениях и сложных комбинированных аритмиях (44,6 и 41,2 соответственно). При синдроме слабости синусового узла 1,11 типа повышения кардиоспецифических аАТ не отмечалось, что может свидетельствовать о преобладании вегетативных вагозависимых механизмов развития СССУ невысокой градации. Повышение продукции разных аАТ чаще наблюдалось у детей от 2 до 6 лет. У них же значительно чаще встречалось повышение содержания аАТ к двум и более миокардиальным антигенам и отмечались наиболее высокие показатели содержания аАТ. Это позволяет предположить большую частоту и активность текущего недиагностируемого клинико-инструментальными методами иммуно-воспалительного процесса в сердечной мышце у детей младшего возраста.

Выводы: Повышение продукции аАТ преимущественно к цитоплазматическому белку миокарда COS-05-40 и бета-адренорецепторам у 1/3 детей с аритмиями и угнетении выработки аАТ к белку мембран СОМ-015-15 более чем у половины пациентов с НРСиП может косвенно свидетельствовать:

1) о развитии как структурных, так и функциональных, возможно, иммуно-воспалительных и/или дистрофических изменений в миокарде с нарушением равновесия синтеза и распада компонентов кардиомиоцитов;

2) о нарушениях обменных процессов в мембране миокардиальных клеток с изменением мембранных электро-физиологических свойств.

ПРОДУКЦИЯ АУТОАНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ СТРАДАЮЩИХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БЛОКАТОРОВ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ-АЛЬФА (ФНО-А)

Konstantinidis Th¹, Tsigalou Ch¹, Galanopoulos N², Gioka Th¹, Antoniou D¹, Tziola A¹, Kampouromiti G.¹

¹ Immunology Department of Microbiology Laboratory; ² Rheumatology Unit University General Hospital of Alexandroupolis, Alexandroupoli, Greece theoxari_k@rambler.ru

Введение. Лечение ревматоидного артрита (РА) биологическими препаратами такими как Адалимумав (человеческие моноклональные антитела к ФНО-а) приводит к образованию аутоантител (а-АТ). Целью данной работы является изучение уровня а-АТ (АНА и анти-ДНК) у пациентов с РА, на фоне биологической терапии.

Методы исследования. Из 39 больных, страдающих РА с давностью заболевания от 1,7 до 35 лет получавших Адалимумаб на протяжении от 6 месяцев до 4 лет, 7 пациентов были исключены из исследования, так как срок наблюдения за ними составлял менее 6 месяцев. В исследовании приняли участие 32 больных (25 женщин и 7 мужчин в возрасте 25-78 лет). В качестве базисной терапии применялись препараты Метотрексат (n=20) и Лефлуноמיד (n=12). Анализ уровня антинуклеарных а-АТ (АНА) был проведен методом IIF cut off 1/160, анти-ДНК а-АТ (anti-dsDNA) методом IIF и Elisa, ревматоидный фактор (РФ) и компоненты комплемента C₃ C₄ методом нефелометрии перед началом терапии блокатором ФНО-а и каждые 6 месяцев на протяжении исследования.

Результаты исследования. Положительный титр АНА до начала лечения был выявлен у 6 (18,7%) больных, у 4-х с титром 1/160 и у 2-х 1/320. Положительный титр АНА на протяжении исследования был отмечен у 10 (31/3%) больных (8 женщин и 2 мужчин), у 2-х на 18^й месяц, у 3-х на 24^й месяц исследования. Анти-ДНК а-АТ были обнаружены у 4-х пациентов (12,5%) с титрами (17-25 IU/ml), компоненты комплемента C₃ C₄ у всех больных были в пределах нормы.

Выводы. Не обнаружено взаимосвязи между образованием а-АТ (АНА, анти-ДНК) и препаратом базисной терапии (Метотрексат/ Лефлуноמיד). У больных, страдающих ревматоидным артритом, на фоне терапии препаратом Адалимумав не отмечались иммунологических и/или клинических проявлений, характерных для системной красной волчанки.

ВНЕДРЕНИЕ МЕТОДА ЭЛИ-П КОМПЛЕКС ДЛЯ ПРЕДГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ И ПРОГНОЗА РОЖДЕНИЯ ЗДОРОВОГО РЕБЕНКА

Кочакова Л.Б., Погребная С.Е., Кошкина И.А.

ИП Громова «Медицинский центр» Магнитогорск, Россия.

Во все времена наибольшей человеческой радостью была возможность иметь здоровых детей. Однако индекс рождения здоровых новорожденных в г. Магнитогорске остается крайне низким - сегодня здесь лишь около 25% детей рождаются здоровыми. Предполагается, что эта ситуация является следствием влияния различных вредных факторов среды, нарушающих нормальный ход эмбрионального развития (связаны с мощной металлургической промышленностью города, повышенным радиационным фоном, запыленностью, а также нерациональным питанием, высоким инфекционным индексом, часто - неоправданно массивной антибактериальной и противовирусной терапией, вредными привычками). Производственные вредности при работе женщин на коксохимическом производстве нередко ведут к развитию синдрома истощенных яичников уже к 30-35 годам.

Целью исследования являлось определение необходимости обследования женщин с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс для их последующей предгравидарной подготовки.

Материалы и методы. Обследовано 200 женщин, заинтересованных в наступлении беременности, в возрасте от 20 до 44 лет. У всех женщины с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс проводилось определение эмбриотропных аутоантител (а-АТ) для оценки частоты встречаемости лиц, имеющих нарушения иммунорегуляции гестационного процесса и выработки индивидуальной тактики проведения предгравидарной подготовки.

Результаты и обсуждение. Ранее было установлено, что а-АТ, определяемые с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс в сыворотке крови матери (а именно а-АТ к ХГЧ, двуспиральной ДНК, β 2-гликопротеину, антиидиотипы к β 2-гликопротеину, ревматоидный фактор, коллаген, белки S100 и МР-65), влияют на развитии эмбриона и плода и отражают состояние материнского организма. В нашем исследовании было показано, что 95% обследованных женщин имеют изменения в содержании тех или иных определявшихся а-АТ. У 30% женщин имелись аномалии а-АТ к ХГЧ; у 80% женщин были изменения а-АТ к β 2-гликопротеину и/или антиидиотипов к β 2-гликопротеину (т.е. признаки антифосфолипидного синдрома); у 70% отмечались изменения а-АТ к белку S100; у 50% - к белку МР-65; у 80% были изменения ревматоидного фактора; у 20% - изменения а-АТ к коллагену; у 25% - к ДНК. Аномальная иммуносупрессия со снижением содержания всех а-АТ ниже референтных значений была выявлена у 30% обследованных женщин. Проведение направленной предгравидарной подготовки позволила добиться коррекции состояния иммунорегуляции беременности у 103 женщин. К настоящему моменту беременность наступила, нормально развивалась и закончилась рождением здорового новорожденного у 82 женщин (в том числе у 27 женщин с неудачно завершившимися предшествующими беременностями).

Заключение. Определение в крови женщин а-АТ, участвующих в регуляции беременности позволяет направленно провести предгравидарную подготовку, на основе индивидуального подхода. При этом в зависимости от конкретной ситуации, предгравидарная подготовка была направлена преимущественно на санирование инфекций у супружеской пары, на отстранение женщины от работы с производственными вредностями, на коррекцию гормонального статуса, на обеспечение оптимального режима труда и отдыха и т.п. Устранив, таким образом, нарушения регуляции эмбриогенеза, удастся создать необходимые условия для вынашивания и рождения здорового ребенка. Мы полагаем, что обследование женщин, заинтересованных в беременности с помощью скринингового метода ЭЛИ-П-Комплекс должно быть внедрено в широкую акушерскую практику г. Магнитогорска.

ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДНО-ОЗОНОВОЙ ТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ АУТОИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ДЕРМАТОЗАМИ

И.В. Кошелева

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, г. Москва

Кислородно-озоновая терапия (озонотерапия; ОТ) активно применяется для лечения дерматозов и реализуется путем разнообразных методик системного и наружного воздействия озона на организм человека, оказывая влияние на разные звенья патогенеза кожных заболеваний. К настоящему времени накоплены убедительные, хотя и фрагментарные данные, касающиеся иммуотропного действия ОТ. Имеются сообщения о нормализации показателей клеточного иммунитета, онормализации исходно измененных уровней иммуноглобулинов А, М и G, а также циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови, об активации фагоцитарного звена иммунитета под влиянием ОТ. Таким образом, ОТ оказывает иммуномодулирующее воздействие на основные звенья иммунитета. Однако стандартные методы оценки иммунного статуса до сих пор не давали возможности адекватно оценить состояние иммунной системы и объяснить механизмы регуляторного влияния ОТ. Это стало возможно при определении состояния естественного аутоиммунитета у пациентов с дерматозами.

Мы проводили исследование различных параметров естественного аутоиммунитета, выявившее наличие активации или супрессии гуморального звена иммунитета, аутоиммунного компонента воспаления и тканевых нарушений у 103 пациентов с псориазом, красным плоским лишаем, ограниченной склеродермией и ангиитами кожи. Все пациенты получали системную ОТ (в/в капельные вливания озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 2 мг/л, 7-10 процедур).

Определение уровня антител-маркеров в сыворотке крови к разным белкам проводили методом ИФА до начала лечения и через 3-5 дней после его окончания.

Отмечен значительный положительный эффект ОТ, выразившийся в регрессе клинических проявлений дерматозов, удлинении периода ремиссии и иммуномодулирующем эффекте. Использованная в исследовании методология, основанная на определении содержания аутоантител в сыворотке крови, отражает различные звенья иммунопатогенеза дерматозов, наличие активации или супрессии гуморального звена иммунитета и является принципиально новым подходом к изучению влияния ОТ на систему иммунитета. Было отмечено достоверное снижение исходно повышенных показателей, нормализация исходно сниженных показателей; нормальные уровни аутоантител после ОТ не претерпели существенных изменений.

Данные по динамике содержания аутоантител в сыворотке крови в процессе лечения позволили нам осуществить принципиально новый подход к традиционной ОТ при дерматозах, а именно: оптимизировать схемы и дозы в зависимости от наличия признаков активации или супрессии иммунитета.

ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ И НАРУШЕНИЯ ГЕСТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Е.Н. Кошель, Н.М. Подзолкова

Кафедра акушерства и гинекологии ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава», Москва, Россия

В последние годы увеличивается частота выявления папилломавирусной инфекции (ПВИ), являющейся фактором риска возникновения ряда злокачественных новообразований. Однако последствия ПВИ не ограничиваются повышенным онкориском, косметическими проблемами и возвратным папилломатозом у детей. Имеются данные, свидетельствующие об участии ПВИ в патогенезе некоторых нарушений гестационного процесса, преимущественно на ранних стадиях [1]. Обнаружено, что при ПВИ нарушается имплантация оплодотворенной яйцеклетки [2], повышается частота спонтанных абортов в первом триместре [3], существенно снижается эффективность ЭКО [4]. Нако-

нец, установлено, что беременность у женщин с ПВИ нередко сопровождается нарушениями развития нервной трубки плода, что ведет примерно к 10-кратному росту частоты нарушений функций нервной системы у детей, рожденных от инфицированных матерей [5]. Таким образом, для женщин с ПВИ характерен повышенный риск развития осложнений беременности, хотя механизмы этого явления остаются не вполне понятными.

Обнаружено, что у части беременных, инфицированных вирусом папилломы человека (ВПЧ), наблюдается повышение синтеза аутоантител (а-АТ) к белкам S100, участвующих в регуляции процессов апоптоза, тканевого роста, регенерации и дифференцировки. Повышение продукции а-АТ к S100 можно объяснить механизмом «молекулярной мимикрии» [6], т.е. структурным сходством ряда эпитопов белков S100 и эпитопов белков ВПЧ. Повышение же продукции а-АТ к S100 сопровождается ростом частоты разного рода нарушений гестационного процесса [5].

Целью исследования являлась оценка прогностической значимости изменений содержания а-АТ к белку S100 у беременных с ПВИ.

Пациенты, материалы и методы. Был проведен анализ развития гестационного процесса у беременных (n = 109; возраст 20-35 лет) находившихся на стационарном лечении в ГКБ №72 и состоявших на учете в женских консультациях города Москвы. Группу-1 (n = 55, ср. возраст 25+2 года – контрольная группа) составили беременные без признаков ПВИ, соматически здоровые и без осложнений акушерского и гинекологического анамнеза; Группу-2 (n = 16, ср. возраст 27+4 года) составили беременные с клиническими проявлениями ПВИ, подтвержденной ПЦР диагностикой, не имевшие изменений в сывороточном содержании а-АТ к белку S100; Группу-3 (n = 38, возраст 26+3 года) составили беременные с клиническими проявлениями ПВИ, подтвержденной ПЦР, с повышенным сывороточным содержанием а-АТ к белку S100. ПЦР проводилась с образцами цервикальных мазков. Всем беременным проводились стандартные клинко-лабораторные и инструментальные исследования; кроме того, с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс у них анализировали содержание панели а-АТ (к ХГЧ, ДНК, к β 2-гликопротеину, к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, к коллагену, к белку S100, к белку МР-65) в образцах их сыворотки крови на сроках 6-9 недель беременности. Содержание разных а-АТ, оценивали согласно инструкции производителя. Избирательное (парциальное) повышение содержания АТ к S100 оценивали следующим образом. У каждой пациентки рассчитывали суммарную среднюю иммунореактивность по всем определявшимся а-АТ. Эту величину, принимали за 100% и по отношению к ней рассчитывали относительный индивидуальную иммунореактивность АТ к S100. Величины, превышающие 115%, рассматривали как избирательное повышение АТ к S100.

Результаты и обсуждение. У женщин обследуемых групп не отмечалось каких-либо характерных изменений в содержании АТ к ХГЧ, ДНК, β 2-гликопротеину и большинству др. антигенов, выявляемых с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс. В тоже время содержание АТ к белку S100 оказалось повышенным у 38 из 54 обследованных (70,4%) с ПВИ. Интересно, что в Группе-3 (избирательно повышенные АТ к S100) наличие ПВИ было диагностировано клинически и подтверждено положительными результатами ПЦР в 55% случаев, у 26% беременных были выявлены клинические проявления ПВИ, но ПЦР диагностика дала отрицательный результат и в 18% - отмечалась позитивная реакция ПЦР при отсутствии клинических признаков ПВИ. В тоже время в Группе-2 (уровни АТ к S100 ниже 115%) у всех беременных были выявлены только клинические проявления ПВИ при отрицательных результатах ПЦР. У женщин Группы-3 наиболее часто встречались разного рода нарушения гестационного процесса ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ в сравнении с Группой-1 и Группой-2, соответственно). При этом в Группе-3 угроза невынашивания (особенно в ранние сроки) отмечалась у 92% беременных (отслойка хориона отмечалась в 79% случаев), в сравнении с Группой- 2, где угрозы невынашивания отмечалась в 62,5% (отслойка хориона в 25%). В 17% случаев беременность в Группе-3 закончилась гибелью эмбриона в сроке 9-10 недель. Угроза позднего самопроизвольного

выкидыша наблюдалась у 51,6% беременных Группы-3, у 37,5% - Группы-2 и ни в одном случае в контрольной группе. Угроза преждевременных родов также чаще отмечалась в Группе-3 (32,3%), реже в Группе-2 (25%) и в контрольной – не наблюдалась. Хроническая плацентарная недостаточность (ХПН) отмечалась в Группе-3 и Группе-2 в 39% и 31,3% случаев; хроническая внутриутробная гипоксия плода – в 48% и 37,5% случаев соответственно; задержка внутриутробного развития – в 29% и 5%; гестозы отмечались в 65% и 31,3% случаев, соответственно (гестоз обычно протекал в легкой форме и проявляется только отечным синдромом). В тоже время у женщин Группы-1 была отмечена только угроза невынашивания (в 10%); других нарушений гестационного процесса отмечено не было. Полученные данные свидетельствуют, что ПВИ является фактором, провоцирующим аномальное повышение сывороточного содержания а-АТ к белку S100 (это наблюдалось у 70,4% обследованных). В свою очередь, повышение а-АТ к S100 увеличивает риск осложнений беременности. Вероятно, ПВИ можно рассматривать как важный этиологический фактор нарушения гестационного процесса (вплоть до гибели плода), причем механизмы патогенеза отмеченных нарушений связаны в ПВИ-зависимым парциальным (независимым от содержания др. а-АТ) повышением продукции а-АТ к белкам S100.

Несмотря на наличие признаков ПВИ, приблизительно у 30% женщин (Группа-2) отмечалось нормальное содержание АТ к S100. Причины этого остаются не вполне понятными. Тем не менее, нам представляется возможным высказать два предположения. Во-первых, наличие или отсутствие изменений в продукции АТ к S100 может быть связано с индивидуальными особенностями наборов МНС женщин, по разному презентующих процессированные фрагменты антигенов ВПЧ для распознавания клетками иммунной системы [6]. Во-вторых, обращает внимание, что у женщин Группы-2 (с нормальной продукцией АТ к S100) имелись клинические признаки ПВИ при отрицательных данных ПЦР. Это позволяет предполагать у них низкие уровни репликации вирусов, возможно, недостаточные для индукции специфического анти-ВПЧ/анти-S100 иммунного ответа у носителя инфекции.

Заключение

1. Папилломавирусные поражения гениталий у беременных встречаются в 49,5% случаев. При этом клинические проявления ВПЧ с сочетанием положительной ПЦР отмечаются в 38,9%, клинические проявления ВПЧ с отрицательной ПЦР - в 42,6%, положительная ПЦР без клинических проявлений ВПЧ – в 18,5%.

2. Наличие папилломавирусной инфекции является фактором, провоцирующим патологическое повышение сывороточного содержания а-АТ к белку S100. При этом для 70,4% беременных с ВПЧ наблюдается повышение сывороточного уровня а-АТ к белку S100 (чаще - в пределах 118-166%), а у 29,6% инфицированных уровни а-АТ к S100 не превышают границы нормы.

3. Наиболее тяжело беременность протекает у женщин с клиническими проявлениями ВПЧ и положительной ПЦР, что наиболее часто сопровождается высокими значениями а-АТ к белку S100.

4. Системные иммунные сдвиги, возможно, определяются индивидуальными особенностями наборов молекул МНС. Аллельные варианты МНС по разному презентуют фрагменты антигенов ВПЧ, что обуславливает индивидуальное наличие или отсутствие повышения продукции а-АТ к S100.

5. Стойкое повышение продукции а-АТ к S100 повышает частоту нарушений гестационного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Роговская С.И. - Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. Руководство для практикующего врача. Москва, 2005, 7-12.
2. Henneberg A., et al., - J. of Assisted Reproduction and Genetics, 2006, 23, 255-259.
3. Lowery, C.L., et al., - Virus Genes, 1997, 14, 13-17.
4. Spandorfer S., et al., - Fertility a. Sterility, 2006, 86, 765-767

5. Полетаев А.Б. – Ж. Нейроиммунология, 2003, 1, 14-17.
6. Полетаев А.Б. – Клиническая и лабораторная иммунология. Москва, МИА. 2007.

ЦИКЛОСПОРИН А ПРЕДОТВРАЩАЕТ ОБРАЗОВАНИЕ АУТОАНТИТЕЛ К ФИБРИЛЛАРИНУ У МЫШЕЙ

М. С. Красильщикова, В. И. Дейгин, О.В. Зацепина

ИБХ им. М.М.Шемакина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва, Россия

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) относятся к одним из наиболее распространенных. В основе патогенеза АИЗ лежит развитие самоподдерживающегося иммунного ответа на собственные антигены организма, что приводит к повреждению клеток и тканей, содержащих такие антигены. Несмотря на продолжающиеся в течение многих лет исследования, точные причины возникновения АИЗ до сих пор остаются неизвестными. К факторам, индуцирующим развитие этих заболеваний, относятся генетическая предрасположенность и такие экзогенные факторы, как инфекции, лекарственные препараты и другие ксенобиотики.

В конце 80-х годов было обнаружено, что регулярные инъекции сублетальных доз $HgCl_2$ лабораторным мышам линии SJL/J приводят к развитию АИЗ, сопровождающегося выработкой аутоантител к фибрилларину – белку ядрышка, который часто является мишенью аутоантител при системных АИЗ человека. Хотя точный механизм развития аутоиммунного процесса под действием хлорида ртути не известен, полагают, что $HgCl_2$ индуцирует протеолиз фибрилларина по специфическим сайтам, а образующиеся фрагменты белка выступают в качестве криптических аутоантигенов (Chen M. et al., 2002). АИЗ, индуцируемое хлоридом ртути, схоже с системными АИЗ человека. При нем характерно отложение иммунных комплексов в почках. Мы использовали модель индуцированного хлоридом ртути АИЗ для изучения эффекта циклоспорина А, действие которого связано с селективным ингибированием экспрессии генов, участвующих в ранних этапах созревания Т-лимфоцитов. Он также подавляет антиген-зависимое высвобождение лимфокинов Т-лимфоцитами, что ведет к подавлению развития Т-лимфоцитзависимых антител.

Работу проводили на самках мышей линии SJL, содержащихся в условиях, свободных от патогенной микрофлоры. Мыши получали п/к инъекции хлорида ртути (по 40 мкг, дважды в неделю в течение всего эксперимента). Циклоспорин вводили в/бр 5 раз в неделю в трех дозах в течение трех недель. Введения циклоспорина и хлорида ртути начинали одновременно.

Показано, что в зависимости от концентрации, циклоспорин частично (20 мг/кг) или полностью (50 мг/кг) подавляет появление аутоантител к фибрилларину, причем эффект сохранялся после прекращения лечения. Эти наблюдения свидетельствуют в пользу того, что животные с индуцированным хлоридом ртути АИЗ могут служить моделью для изучения механизмов иммуноотропности ртути и для испытаний препаратов, предположительно обладающих супрессорными свойствами.

УРОВНИ НЕЙРОМЕДИТАТОРОВ У РАБОЧИХ, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ РТУТИ

И. В. Кудаева, Л.Б. Маснабиева

АФ НИИ медицины труда и экологии человека ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН, Ангарск, Россия

Хронические воздействия металлической ртути (МР) в условиях работы на промышленных предприятиях, сопровождается ртутной интоксикацией (РИ) и патологическими изменениями в первую очередь со стороны нервной системы. РИ развивается постепенно и длительный период времени протекает бессимптомно. Начальная стадия хронической РИ характеризуется вегетативно-сосудистой дистонией на фоне невротического синдрома (истощаемость, эмоциональная неустойчивость, раздражительность, снижение работоспособности, внимания, нарушения сна [Измеров, 1996]). Для РИ

характерны повышенная возбудимость симпатического отдела вегетативной нервной системы, лабильность пульса, склонность к тахикардии, повышенная потливость. Еще раньше отмечаются изменения когнитивных процессов. Выраженная стадия хронической РИ протекает по типу тяжелого психовегетативного (неврозоподобного) синдрома, сопровождающегося токсической энцефалопатией. Она развивается у лиц, имеющих большой стаж работы с повышенными концентрациями МР. Для больных характерны выраженная астения, почти постоянная головная боль, нарушения сна, резко повышенная раздражительность, слезливость, обидчивость, склонность к агрессивным реакциям и депрессии, а также синдром ртутного эретизма. Последний характеризуется повышенной робостью, смущаемостью, неуверенностью в себе, выраженной сосудистой реакцией и сердцебиением при волнении. Синдром указывает на нарушения в эмоциональной сфере, отражающие значительную степень выраженности органического поражения ЦНС. Основой указанных клинических проявлений являются, в том числе, нарушения медиаторного обмена.

Целью настоящего исследования явилось изучение содержания возбуждающих и тормозных нейротрансмиттеров в крови рабочих, контактирующих с парами МР.

Материалы и методы. Были обследованы 59 рабочих производства каустика, контактирующие в профессиональной деятельности с парами МР (первая группа). Стаж работы обследуемых во вредном производстве составил 6 лет и более. Рабочие были включены в группы повышенного риска по формированию профессиональной патологии по результатам проведения периодических медицинских осмотров. Начальные нарушения нервной системы характеризовались у них изменениями по типу вегетососудистой дистонии и/или астенического синдрома [Мещерягин и соавт., 2008]. Вторую группу составили 46 человек с установленным диагнозом хронической РИ, имеющие контакт с парами МР более 15 лет, и не работающие во вредном производстве на момент обследования длительный период времени. В образцах венозной крови, отобранной натощак в утренние часы, изучали содержание серотонина, адреналина, норадреналина и дофамина с помощью ИФА и специализированных тест-наборов. Адреналин, норадреналин и дофамин предварительно экстрагировались из образцов крови с использованием аффинного геля, специфичного к цисдиольным группам, затем ацилировались до N-ациладреналина, N-ацилнорадреналина и N-ацилдофамина, соответственно, и в ходе детекции подвергались энзиматическому превращению в N-ацилнорметанефрин (для адреналина и норадреналина) или в N-ацил-3-метокситирамина (для дофамина).

Результаты и обсуждение. Показано, что у лиц с диагнозом хронической РИ, наблюдалось достоверное снижение концентрации дофамина в крови ($43,9 \pm 5,8$ пг/мл) в сравнении с показателями рабочих без диагноза профессионального заболевания ($59,2 \pm 5,2$ пг/мл, $p < 0,05$). Размах колебаний изучаемого показателя у лиц первой группы находился в пределах от 15 до 93 пг/мл, у 50% обследуемых уровень дофамина был ниже 50 пг/мл. У лиц с клиническими проявлениями РИ аналогичный процент соответствовал 65 при колебаниях от 12 до 84 пг/мл. Изменение концентрации дофамина сопровождалось уменьшением среднegrupпового уровня норадреналина до $77,1 \pm 23,1$ пг/мл ($p < 0,05$). Концентрация данного нейротрансмиттера у рабочих с начальными неврологическими нарушениями была в 2 раза выше и колебалась в пределах $142,5 \pm 20$ пг/мл. Максимальный уровень, зарегистрированный в данной группе обследуемых, соответствовал 181 пг/мл, минимальный – 21 пг/мл. Лица с содержанием норадреналина выше 100 пг/мл составило 36% при 25% в группе лиц с проявлениями токсической энцефалопатии. Уровень адреналина в обследуемых группах достоверно не различался и соответствовал $45,9 \pm 6,9$ пг/мл и $52,5 \pm 8$ пг/мл для лиц первой и второй групп. Следует отметить, что у 14% больных с диагнозом хронической РИ уровень адреналина превышал верхний референтный интервал. У лиц с начальными неврологическими нарушениями аналогичное количество не превышало 5%. Концентрация серотонина была снижена у обследуемых с токсической энцефалопатией до $84,3 \pm 12,9$ нг/мл в сравнении с показателями лиц с на-

чальными проявлениями нарушений нервной системы – $115,7 \pm 9,1$ нг/мл. Отмеченная разница среднегрупповых цифр была связана с тем, что 40% обследуемых из первой группы имели концентрацию серотонина в крови выше 100 нг/мл, а во второй группе число подобных случаев не превышало 22%. Максимально регистрируемый уровень серотонина у работающих в контакте с парами МР составил 200 нг/мл, минимальный – 63 нг/мл (у лиц с диагнозом профессионального заболевания, не контактирующих с токсикантом – и 160 и 31 нг/мл соответственно).

Хотя уровни нейромедиаторов в крови нельзя со 100% точностью экстраполировать на их содержание в ЦНС, косвенно они отражают системные процессы нейромедиации, а в отдельных случаях позволяют характеризовать состояние периферического звена вегетативной нервной системы. Например, уровень норадреналина в крови в основном зависит от выработки его постганглионарными клетками симпатической НС и характеризует активность соотв. нейронов. Гуморальную же часть данного отдела НС характеризует содержание адреналина, синтезируемого, главным образом, мозговым отделом надпочечников [Кишкун, 2007]. Предшественником указанных нейромедиаторов и в центральном, и в периферическом отделах НС при их синтезе *de novo* является дофамин. Отметим, что симпатический отдел вегетативной НС играет большую роль в психической деятельности, участвуя в процессах быстрой адаптации к условиям среды. Что реализуется при нормальном распределении, синтезе и утилизации катехоламинов в специфических отделах ЦНС (гиппокамп, прозрачная перегородка, миндалевидное тело, задние отделы лобного неокортекса, гипоталамус). Катехоламиновые механизмы обеспечивают необходимый уровень поддержания оптимального тонуса ЦНС и вегетативной НС; контроль информационных процессов в мозге осуществляют стимулирующие и ингибирующие механизмы, среди которых особое место занимают катехоламины и индоламины (серотонин). Дефицит катехоламинов или изменение их соотношений вызывает депрессии, моторную заторможенность, снижение настроения, замедление психической деятельности (что характерно для лиц с токсической энцефалопатией при хронической РИ). При депрессивных синдромах разного генеза уровень катехоламинов в местах их наибольшего содержания низкий, но высока скорость обратного захвата при их утилизации.

Наши данные о снижении уровня норадреналина, дофамина и серотонина в крови больных с энцефалопатией при РИ, позволяют предположить, что аналогичные изменения наблюдаются и в ЦНС. Механизмами реализации этих нарушений могут быть ускоренный обратный захват и распад медиаторов, нарушение их синтеза или наработка аутоантител на нейротрансмиттеры. Снижение концентрации нейромедиаторов влечет за собой нарушения нейрофизиологических механизмов, которые могут влиять на состояние иммунной системы. Например, снижение активности дофаминергической системы или активация серотонинергической системы ведет к увеличению количества супрессоров [Девойно, Илюченков, 1993]. Регуляторная роль норадренергических структур реализуется в иммунодепрессивном эффекте [Крыжановский, 2003]. Учитывая однонаправленность изменений вышеуказанных нейротрансмиттеров, сложно предсказать суммарный результат влияния данных нарушений на функции иммунной системы, что требует дальнейшего изучения.

ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНОЙ ТИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Л.Г.Кузьменко*, В.Я.Арион, И.В.Зими́на, О.В.Быстрова, С.Н.Москвина, Н.М. Киселева*, О.Б.Сысоева, Т.А.Луканидина, Исмаиль Насер Наваль Хасан*, С.Б.Кротова**
*НИИ Физико-Химической Медицины Росздрава, Москва, *РУДН, Москва; **РГМУ, Москва, Россия*

Настоящая работа посвящена изучению секреторной функции тимуса, а именно исследованию уровня растворимых тимических гормонов (факторов) в пуповинной крови новорожденных. Под нашим наблюдением находилось 109 доношенных новорожденных

детей (мальчиков - 45, девочек - 64), включенных в исследование методом непреднамеренного отбора. В зависимости от состояния здоровья матери, особенностей течения беременности и родов, наблюдавшиеся новорожденные были разделены на 4 группы.

1 группа включала 16 детей (мальчиков – 6, девочек – 10), родившихся от матерей с благополучным семейным и личным акушерско-гинекологическим и соматическим анамнезом. Беременность и роды протекали без осложнений.

2 группа состояла из 14 новорожденных (мальчиков – 8, девочек – 6), родившихся от матерей с отягощенным соматическим и/или акушерско-гинекологическим анамнезом, но с нормально протекавшей беременностью и родами.

3 группа состояла из 20 новорожденных (мальчиков – 9, девочек - 11), родившихся от матерей с благоприятным соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом, но с осложнённым течением беременности.

4 группу составили 59 детей (мальчиков - 22, девочек – 37), родившихся от матерей с отягощенным соматическим и/или акушерско-гинекологическим анамнезом и с осложненным течением беременности.

Родители всех новорожденных статистически значимых различий по возрасту не имели ($p > 0,5$). Средний возраст матерей находился в пределах 24-26 лет.

У всех новорожденных исследовали функциональное состояние тимуса по уровню сывороточной тимической активности (СТА) в пуповинной крови, определяемой по Dardene M., Vach J.F. (1975). В основу метода положена оценка восстановления чувствительности Т-лимфоцитов селезенки тимэктомированных мышей к азатиоприну под влиянием разных разведений сывора́тки пуповинной крови.

Результаты. У 96 из 109 доношенных новорожденных (88%) значение СТА находилось в пределах значений $\log_2 N = 2-4$, что соответствовало разведениям (N) исследуемой сывора́тки пуповинной крови в 4 - 6 раз. У небольшой части обследованных новорожденных (3,7%) уровень СТА в пуповинной крови соответствовал значению $\log_2 N = 5$, т.е., разведению сывора́тки в 32 раза.

Достоверного различия в уровне СТА в пуповинной крови новорожденных мальчиков и девочек выявлено не было. Это позволило проводить анализ результатов исследования уровня СТА без разделения новорожденных по полу.

Было проанализировано количественное содержание СТА в пуповинной крови новорожденных детей в зависимости от состояния здоровья матерей, согласно группам, описанным выше. Так как нам необходимо было провести сравнение разных по величине групп в относительных величинах и с учетом малых выборок, мы воспользовались коэффициентом σ , обозначающим частоту признака, рассчитанному по отношению к общей выборке, принятой за 1,0. Полученные результаты свидетельствуют, что в первой группе новорожденных доминировали дети с уровнем СТА в пуповинной крови ($\log_2 N$) равным значению 2-3; во второй группе - дети со значением СТА = 3; в третьей группе - с СТА = 3-4, в четвертой - с СТА = 2-4.

В тех группах, которые характеризовались наличием отягощенного анамнеза и неблагоприятным и/или осложненным течением беременности, уровень СТА в пуповинной крови новорожденных в большинстве случаев был несколько выше. Однако статистически значимого различия между группами мы не выявили. Так, среднее значение СТА по группам ($M \pm m$), было: в первой группе $2,8 \pm 0,3$, во второй – $2,7 \pm 0,2$, в третьей – $3,3 \pm 0,2$, в четвертой – $2,7 \pm 0,1$. Колебания уровня СТА у новорожденных не имели значимых различий, связанных со здоровьем матерей и течением беременности. В работе Consolini R. et al. (2000) при исследовании уровня тимулина (истинного гормона тимуса) в плазме крови людей разных возрастных групп было показано, что у детей от 1 дня до 14 дней, уровень тимулина ($\log_2 N$) равен 2,69. Этот уровень достигал максимума в 5-10 лет ($\log_2 N = 4,77$), держался в пределах максимальных показателей до 14-18 лет, после чего начинал снижаться, и к 36 годам становился минимальным ($\log_2 N = 1$), сохраняясь таким до глубокой старости.

Следовательно, уровень СТА в пуповинной крови новорожденных детей, обнаруженный нами, идентичен уровню тимулина у детей в возрасте от 1 дня до 14 дней, выявленному другими авторами.

ЕСТЕСТВЕННЫЕ АУТОАНТИТЕЛА В ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЁННЫХ ДЕТЕЙ

Л.Г. Кузьменко¹, З.И. Эсмурзиева¹, А.А. Абросимова², О.Н. Игнатьева¹, Киселева Н.М.³, Газарян Ж.Р.²

¹РУДН, Москва; ²МИЦ «Иммунокулус», Москва; ³РГМУ, Москва, Россия

В настоящее время происходит становление нового направления медицины – нейроэндокриноиммунофизиологии, и одним из органов, в котором осуществляются тесные нейроэндокриноиммунные коммуникации, помимо головного мозга, является вилочковая железа (ВЖ). Являясь центральным органом иммунной системы, ВЖ оказывает регулирующее влияние как на Т-, так и В-звено системы иммунитета, однако, влияние её на В-звено до настоящего времени изучено недостаточно. Нами предпринята попытка выявить корреляции между уровнем естественных аутоантител (е-АТ) определённой антигенной специфичности и функциональным состоянием ВЖ на ранних этапах онтогенеза человека.

Материал и методы. В исследование были включены 53 здоровых доношенных новорождённых детей из семей с неотягощённой наследственностью, от практически здоровых матерей в возрасте от 18 до 33 лет. Данная беременность протекала без осложнений у 11 матерей, с осложнениями у 37. В числе осложнений наблюдались гестозы (у 4), угроза преждевременных родов (у 2), повторные ОРВИ (у 23). У 7 матерей беременность протекала на фоне уреаплазмоза, и/или хламидиоза; 3 матери были носителями цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ), 2 – герпетической. У 7 матерей в родах применялось обезболивание промедолом. Наблюдавшиеся дети были распределены на 3 группы, различающиеся по массе тимуса. В 1-ю группу (24 ребёнка) были включены новорождённые с нормальной массой ВЖ, во 2-ю (12 детей) – дети с тимомегалией, в 3-ю (12 детей) – дети, имевшие массу тимуса ниже нижней границы референтных значений. Все дети родились в головном предлежании в физиологическом отделении родильного дома на 38-40 неделях гестации, в том числе через естественные родовые пути – 49 (2 с помощью выходных щипцов), путём кесарева сечения – 3; оценка по шкале Апгар у всех была в пределах 8-10 баллов, в периоде ранней адаптации они расценивались как здоровые и были выписаны из родильного дома в обычные сроки. Определялась как абсолютная масса ВЖ (методом ультразвукового сканирования), так и относительная – по тимическому индексу, представляющему собой отношение массы ВЖ (г) к массе тела ребёнка (г), выраженное в процентах. Величины тимического индекса в пределах 0,26-0,40 расценивались как нормальные, 0,14-0,25 как гипоплазия, 0,41-0,55 как тимомегалия. Помимо этого, для уточнения некоторых положений нами проанализированы и сопоставлены с полученными данными у детей основной группы результаты исследования сыворотки пуповиной крови 3 новорождённых детей и венозной крови их матерей. Определение уровня е-АТ 38 специфичностей проводилось с помощью ИФА, результаты выражались в условных единицах (у.е.). Диапазон референтных значений определялся статистическим методом, согласно которому в указанный диапазон включалась ½ часть случаев каждой специфичности. Обработка результатов проводилась методом вариационной статистики. Частоты признаков рассчитывалась с помощью критерия К, обозначающему частоту признака по отношению к общей выборке, принятой за 1.

Результаты. Установлено, что в пуповинной крови уровень е-АТ колебался в широких пределах, включая нормальный, повышенный и уровень ниже референтных значений. Вместе с этим низкий уровень е-АТ выявлялся в единичных наблюдениях, в то время как высокий и очень высокий, не являлся казуистической редкостью. Наиболее часто высокий уровень е-АТ разной специфичности выявлялся в пуповинной крови де-

тей с тимомегалией (см. таблицу). В группе детей с тимомегалией была выявлена отчетливая тенденция к увеличению количества детей с высокими уровнями е-АТ к цитоплазматическому белку почек KiS-07-120 ($t = 1,959$).

В группе детей с гипоплазией тимуса, по сравнению с группой детей, имевших нормальную массу ВЖ, было достоверно больше новорожденных с высоким уровнем е-АТ к белку S-100 ($p < 0,01$). В группе детей с тимомегалией, по сравнению с группой детей с гипоплазией ВЖ, было достоверно больше детей с высоким уровнем антиидиотипических е-АТ к β_2 -гликопротеину 1.

Частота выявления высокого уровня аутоантител в пуповинной крови здоровых детей с нормальной величиной тимуса и тимомегалией

АНТИГЕН	Количество детей, имевших высокий уровень а-АТ (критерий К)		Уровень значимости различий
	в группе с нормальной ВЖ (n = 24)	в группе с тимомегалией (n = 12)	
Ревматоидный фактор	0,08	0,5	< 0,05
β -адренорецепторы	0,13	0,58	< 0,02
Мембр. белки митохондрий печени	0,17	0,58	< 0,05
Рецепторы инсулина	0,2	0,58	< 0,05
Глутамат	0,14	0,77	< 0,001
ГАМК	0,045	0,54	< 0,01
Дофамин	0,23	0,77	< 0,005
Серотонин	0,14	0,62	< 0,05

Обсуждение. Полученные результаты оказались несколько неожиданными. Имея дело с клинически здоровыми новорожденными, мы предполагали встретиться, в основном, с детьми, имеющими уровень е-АТ близкий к средним значениям здоровых детей с нормальной массой ВЖ. Однако оказалось, что у достаточно большого количества новорожденных детей имел место повышенный и очень высокий уровень е-АТ разных специфичностей. Едва ли это могло быть случайным. Возможно объяснение данного явления, следует искать в тимус-зависимых общих изменениях иммунореактивности в ante- и интранатальном периодах.

Можно также допустить наличие синтеза е-АТ к антигенам разных органов и нейромедиаторам самим плодом. С целью проверки данного предположения у 3 пар мать плод было проведено определение уровня е-АТ ряда специфичностей. Действительно, нашими наблюдениями было установлено, что уровень ряда е-АТ в пуповинной крови новорожденных был выше, чем уровень аналогичных е-АТ в венозной крови их матерей.

Выводы

1) В пуповинной крови отдельных здоровых новорожденных детей могут выявляться повышенные уровни е-АТ разной специфичности, а их содержание их может быть выше материнского.

2) Уровни е-АТ разной специфичности имеют коррелируют с массой ВЖ.

3) Для новорожденных с тимомегалией характерно повышенное содержание е-АТ к глутамату, ГАМК, дофамину, серотонину, мембранным белкам митохондрий печени, β -адренорецепторам, рецепторам инсулина и ревматоидному фактору.

НЕЙРОИММУННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНСУЛЬТА

Куликов Н.О., Пеньковская Е.К.

Магнитогорск, МУЗ Городская больница №1, Россия

Вполне очевидны успехи медицины в лечении заболеваний сердца и сосудов, когда врач добивается контроля над артериальной гипертензией, стенокардией или, по ме-

ре необходимости, пользуется хирургическими методами коррекции (транслюмиальная ангиопластика, АКШ, восстановительная сосудистая хирургия и пр.). С другой стороны меры, направленные на профилактику и лечение инсультов, пока еще далеки от совершенства. Более того, в отечественной зарубежной литературе имеются высказывания о фатальности этого заболевания и, нередко, больных с острым нарушением мозгового кровообращения даже не госпитализируют в отделения реанимации.

Учитывая универсальную роль естественных аутоантител (а-АТ) в модуляции межклеточных взаимодействий, логично предположить, что а-АТ могут участвовать в регуляции функции нейронов, нейроглии, а также осуществляют клиренс от продуктов распада (в том числе, при некрозах нервной ткани). В то же время, их дисбаланс может приводить к превращению зоны пенумбры в зону некроза и стимулировать аутоиммунный процесс, результирующийся постинсультной деменцией.

Задачи настоящего исследования:

1. Анализ корреляций между традиционными и нейроимунологическими методами обследования постинсультных больных.

2. Оценка эффективности иммунокорректирующих средств в профилактике и лечении инсультов.

Материалы и методы. В исследования были включены 2 группы больных: Группа-I - пациенты с четкими клиническими признаками острого ОНМК (возраст 37-62 лет; 3 ж и 3 м); Группа-II - больные ранее (от 4-х месяцев до 2 лет) перенесшие ИИ (возраст 54-65 лет; 6 женщин). Всего в исследовании участвовало 12 пациентов. Все больные первой группы поступили в реанимационное отделение в тяжелом состоянии с нарушениями сознания (10-12б по шкале Глазго) и очаговой неврологической симптоматикой, определяющей топик инсульта. Четверем больным поставлен диагноз ишемического инсульта (ИИ), двум - геморрагический инсульт (ГИ). Контрольную группу составили 45 клинически здоровых лиц обоего пола (возраст 30-75 лет). У всех больных оценивали неврологический статус, проводили энзимодиагностику (определение КФК, ЛДГ крови), с помощью ЭЛИ-Тестов выявляли изменения в содержании а-АТ разной специфичности для оценки изменений в соматических органах и нервной системе. Всем больным проводилась традиционная терапия, направленная на поддержание нормального давления в сосудах мозга и ликвидацию отека мозга. В схему лечения больных с ГИ был включен донорский иммуноглобулин для в/в введений (ИГ), поводом для чего явилось предположение о скавенгирующей роли экзогенно вводимых антител, что могло ускорить санацию очагов кровоизлияния. Кроме того, с информированного письменного согласия пациентов или их ближайших родственников (в случаях, если сам больной был недееспособен) в терапию дополнительно включался новый нейропротекторный препарат NP-3 (прежнее название ХБ), применявшийся в виде ежедневных назальных аппликаций (по 1 капле в ноздрю на протяжении 3 недель). Всего препарат NP-3 получали 5 больных из Группы-I и 6 больных из Группы-II

Результаты и обсуждение. У всех наблюдавшихся больных Группы-I отмечались изменения в сывороточном содержании нейротропных а-АТ. Изменения носили разнонаправленный характер. Например, в четырех случаях было выявлено патологический подъем содержания а-АТ к белкам S100, NF200, GFAP и MP-65 и нейромедиаторам; в двух случаях, напротив, содержание а-АТ было аномально низкое. В одном случае уровень нейротропных а-АТ был резко повышен (в 5-6 раз) как в остром периоде, так и в периоде реконвалесценции, что заставило нас сомневаться в диагнозе ИИ. Действительно, данные МРТ подтвердили наличие у пациента неоперабельной опухоли мозга. Терапия препаратом NP-3 не оказала существенного влияния на состояние больных с острым инсультом. У больных Группы-II (отдаленный период от 4 месяцев до 2 лет после развития ИИ) имелись аффективные, когнитивные нарушения, выраженные спастические гемипарезы. У всех обследуемых было выявлено значительное стойкое повышение содержания нейротропных а-АТ. Препарат NP-3 оказал существенное позитивное

влияние на состояние с ранее перенесенным инсультом. Во всех случаях в срок от 2-х до 8-ми месяцев у больных наблюдали снижение выраженности спастических парезов и резкое уменьшение аффективных и когнитивных расстройств.

Заключение. По совокупности данных ЭЛИ-Тестов и наличии соответствующей клинической картины, можно с высокой вероятностью предполагать наличие инсульта. Характерной особенностью острого периода инсульта являются небольшие отклонения от нормы уровней нейротропных а-АТ. При этом, с помощью метода ЭЛИ-Н-Тест, равновероятно регистрируются как элевация сывороточного уровня а-АТ, так и их снижение. В совокупности с методами ЭЛИ-АИМ-Тест и ЭЛИ-Тромбо-Тест диагностическая значимость обследования еще более повышается и часто позволяет объяснить этиологию процесса (в частности, наличие антифосфолипидного синдрома, васкулита). У больных, перенесших ИИ ранее, имеет место стойкое и значительное повышение уровня а-АТ к нейроспецифическим белкам и нейромедиаторам. По-видимому, этот феномен является отражением аутоиммунного процесса (нейроиммунного конфликта), в исходе которого развивается деменция. Это диктует необходимость применения методов иммунотерапии в постинсультном периоде под контролем мониторинга за содержанием нейроспецифических а-АТ.

По результатам нашего исследования можно отметить, что препарат NP-3 не является «мечтой реаниматолога» и, по видимому, в остром периоде ИИ обладает невысокой нейропротективной активностью. В тоже время, очевидный восстановительный эффект препарата NP-3 проявился в 100% случаев в периоде постинсультной реабилитации. Особенно это было показательно в группе больных перенесших инсульт за год и более до начала лечения. Под воздействием препарата неврологически стабильная картина резко менялась к лучшему в относительно короткие сроки.

ПЛЮСЫ И МИНУСЫ МАТЕРИНСКОГО ИММУННОГО ИМПРИНТИНГА

Hilmar Lemke, Radu Iulian Tanasa*, Ahmad Trad, Hans Lange

Biochem. Inst. of the Med. Faculty of the Christian-Albrechts-Univ. at Kiel, Germany;

**Laboratory of Cellular Immunity, Natl. Inst. of Microbiology and Immunology*

"Cantacuzino", Bucharest, Romania

В процессе эволюции сформировались две сложные системы, опосредующие взаимодействие организма с окружающей средой – иммунная и нервная. Обе принимают разнообразные сигналы из внешнего мира. Обе способны к обучению на основе обработки принимаемых сигналов. Приобретение новых навыков во многом определяет индивидуальное онтогенетическое развитие и позволяет адекватно отвечать на воздействия среды [2]. Преимущественное развитие тех или иных групп сенсорных клеток и рецепторов в обеих системах задается внешними сигналами, поступающими в раннем онтогенезе [2;3]. Обучение в этот период происходит скачкообразно. В период чувствительной фазы (фаза импринтинга) приобретаемые навыки эффективно и прочно закрепляются. Импринтинг нервной системы хорошо изучен (импринтинг типичен для развивающейся зрительной системы, для восприятия формы и пространства, для способности к социальным контактам, для формирования образа матери, для обучения первому языку [4]). Значимость импринтинга для последующего развития была показана наиболее драматическим способом около 800 лет назад, в «эксперименте», заказанном императором Священной Римской империи из рода Гогенштауфенов Фредериком II (1194-1250). Согласно хроникам Салимбене Пармского, одна из бредовых идей императора [5] состояла в том, что он хотел выяснить, на каком языке заговорит младенец, если никто не будет с ним разговаривать – иврит (как наиболее древний), греческий, латинский, арабский, или язык родителей. Воспитывающим матерям и слугам было приказано кормить и купать детей, но разговаривать с ними запрещалось. «Эксперимент» окончился катастрофой – все дети погибли! Этот результат, как ничто другое, демонстрирует необходимость для нормального развития ребенка информационных контактов с окружающей средой. Им-

принтинг типичен и для формирующейся иммунной системы. Все то же самое, что относится к влиянию импринтинга на развитие ЦНС (*поступающая сенсорная информация управляет и задает структуру формирующихся связей между элементами* [2]) характеризует ситуацию и с иммунной системой. В раннем онтогенезе иммунная система также трансформируется под влиянием воспринимаемых сигналов среды. Если исходная противомикробная активность определяется клетками врожденной иммунной системы [6] и репертуаром естественных антител, продуцируемых В-1 клетками [7], то дальнейшее во многом зависит от свойств адаптивного иммунитета. Как же происходит преобразование внутрисистемной регуляции иммунной системы под влиянием внешних сигналов?

Внутренняя обработка индуцированного антигеном ответа

Иммунная система не только отвечает на внешние антигенные стимулы, но и устанавливает *равновесие между процессингом чужеродных антигенов и хорошо сбалансированной аутореактивностью* [8]. Это достигается с помощью идиотипической регуляции. Если специфические АТ (идиотипы - Id или Ат1) от одного животного (кролик, мышь) используются для иммунизации другого животного, в ответ образуются АТ, реагирующие с введенными Id (антиидиотипы или Ат2). В свою очередь, Ат2 могут стимулировать образование анти-анти-Id (Ат3) у третьего животного, а Ат3 – анти-анти-анти-Id (Ат4) у четвертого животного. Как оказалось, идиотип-антиидиотипическая сеть существует также в отдельно взятой индивидуальной иммунной системе. Согласно Эрне адаптивная иммунная система функционирует как сеть идиотипических взаимодействий [9]. АТ на каждой ступени идиотипического каскада представляют собой поликлональный набор, а каждый клон экспрессирует множественные идиотипические эпитопы (идиотопы). Следовательно, каждый клон из определенного набора, например Ат1, имеет комплементарного партнера среди совокупности Ат2. Тем не менее, совокупность Ат3 не идентична совокупности Ат1, а набор Ат4 не идентичен набору Ат2. В действительности лишь часть набора Ат3 (после иммунизации Ат2) идентична части Ат1. Это демонстрирует, что индукция анти-Id АТ зависит не только от взаимораспознавания, но и от регуляторных свойств идиотипической сети, в частности от хелперных и регуляторных Т клеток, распознающих Id В-клеточных рецепторов (BCR), равно как и других Т-клеточных рецепторов (TCR).

Возможность индукции аутологичного анти-Id иммунного ответа свидетельствует, что иммунная система *не* формирует толерантности к идиотопам собственных антигенных рецепторов. В силу чего, преиммунный репертуар, как и репертуар активированных антигеном В- и Т-клеток, регулируется идиотипическими взаимодействиями [7; 9; 10; 11; 12]. Например, при тимуснезависимом ответе 2 типа на α -(1 \rightarrow 3)-декстран, регуляторные Т клетки (T_{reg}) ограничивают ответ к двум главным идиотопам и ингибируют переключение класса на изотип IgG [13; 14]. Вовлеченные в этот процесс T_{reg} являются не антиген-, а Id-специфичными и распознают V_H CDR3 область мажорного идиотипа J558 I-E^d-рестриктированным способом [14]. Поскольку количество Id-специфичные T_{reg} не повышается у стерильных мышей гнотобионтов, перенесенных в нормальное окружение в возрасте 8 недель, [13] можно заключить, что они производятся в неонатальном периоде при контакте с микробными антигенами и длительно персистируют. Что доказывает важность раннего онтогенеза для будущего развития иммунной системы.

Иммунный импринтинг (ИИ)

Регуляторный эффект анти-Id ответа у взрослых обычно имеет небольшую продолжительность, однако, у новорожденных, он продолжается длительно. Отдельные специфичности Id могут теряться, в тоже время под влиянием ИИ могут активироваться «молчащие» в норме клоны и происходить иные изменения, приводящие к пожизненным изменениям репертуаров продуцируемых АТ. Данные о том, что в раннем онтогенезе репертуар В-клеток чувствителен к идиотипической селекции, а АТ-зависимая селекция зрелых Т-клеток у мышей, по всей видимости, возможна только в первые 3 неде-

ли жизни, подтверждают существование механизма Id. Феномен ИИ подтверждается также следующими наблюдениями: а) репертуар Т-клеточного звена, характерный для первых недель жизни, определяет формирование репертуара В-клеток, б) в раннем онтогенезе В- и Т-клетки осуществляют взаимную селекцию репертуаров своих антигенных рецепторов. Наличие ИИ в раннем онтогенезе подчеркивает первостепенную важность материнских АТ, определяющих формирование В- и Т-клеточных репертуаров, сохраняющихся и у взрослых мышей. Эффекты АТ опосредуются Id-специфическими хелперами, супрессорными или регуляторными Т клетками [3]. Например, иммунизация матери растворимой формой V β -8.2-TCR-IgG1 запускает образование TCR-специфичных АТ, которые, передаваясь потомству, индуцируют длительную V β -8-специфическую супрессию, продолжающуюся гораздо дольше, сроков присутствия материнских АТ [15].

Возникает вопрос, имеет ли ранний онтогенетический ИИ какое-либо значение для двух глобальных функций иммунной системы, а именно защиты от патогенов и формирования аутоотолерантности?

Преимущества иммунного импринтинга

Передаваемые материнские АТ необходимы для выживания в течение первых дней жизни потомства [16], они осуществляют защиту от нормальных микробов-комменсалов [17]. К тому же, материнские АТ а) существенно усиливают иммунный ответ потомства на широкий спектр антигенов, б) способны переносить особенности иммунореактивности от матери потомству и в) материнские Id, как и анти-Id, обеспечивают защиту против патогенов (обзор в [3]). Таким образом, материнские АТ играют важную роль в формировании репертуара В- и Т-клеток до полового созревания и обеспечивают передачу материнской иммунной памяти следующему поколению.

Модулирование иммунного ответа материнскими антителами

Некоторые авторы считают, что единственная функция материнских АТ – обеспечить потомство пассивным иммунитетом против патогенов. Если бы это было так, иммунный ответ у животных F1, рожденных иммунизированными матерями, должен был бы развиваться «нормально», после того как материнские IgG выведутся из их кровотока. Этого однако не происходит [18; 19]. 1) Иммунизация матери гаптеном 2-фенил-оксазолоном (phOx) индуцирует синтез анти-phOx АТ класса IgM у неиммунизированных мышей F1. 2) Перенос высокоаффинных иммунных или моноклональных анти-phOx АТ не только вызывает грубые изменения в репертуарах клонов, вовлеченных в первичный иммунный ответ на phOx у потомства, но и сопровождается селекцией анти-phOx клонов с большей аффинностью, нежели у использовавшихся Oх1 идиотипических АТ. 3) Первичная иммунизация антигеном потомства F2 (от неиммунизированных матерей, но трижды иммунизированных «бабушек»), приблизительно у половины животных индуцирует очень высокие титры АТ, характерные для вторичного иммунного ответа. Иными словами, материнские АТ являются отнюдь не только молекулами защиты от патогенов, но и переносчиками информации, обеспечивающими эпигенетическое наследование иммунологической памяти.

Супрессия IgE ответа материнскими антителами класса IgG

Если крыс-самок иммунизировать овальбумином (OVA) – они продуцируют избыток IgE. При этом у их потомства собственный IgE-ответ супрессируется, а IgG-ответ развивается нормально или даже усиленно [20]. Эта изотипспецифичная супрессия индуцируется материнскими АТ класса IgG, но не переносом антигена. Антигенная независимость IgE-супрессии у потомства подтверждена в экспериментах на мышах путем переноса моноклональных IgG АТ к главному аллергену пчелиного яда – фосфолипазе A2 (bvPLA2) [21] или овомукоиду [22]. В обеих системах супрессия IgE была независима от субкласса материнских АТ и продолжалась гораздо дольше, чем сохранялись в сыроворотке потомства материнские IgG.

В ряде исследований было показано, что защита от микробной инфекции может достигаться введением новорожденным животным как идиотипических, так и анти-Id АТ [23, 24]. Мы предположили, что супрессия IgE в следующем поколении может так же быть вызвана анти-Id АТ к IgE-супрессивным IgG АТ, что и было проверено на системе bvPLA2. Анти-идиотипические IgG АТ к IgE-супрессивному идиотипу MS613 [21] вводили самкам в течение 2 дней *после родов*. IgE ответ у потомков мышей подавлялся не только идиотипами, но и анти-Id (даже в более низких концентрациях), тогда как IgG ответ был нормальным в обоих случаях (Tanasa et al., в печати). Мы сделали вывод, что полученные от матерей алерген-специфические *идиотипические* IgG АТ, так же как и соответствующие *антиидиотипы*, опосредуют свои IgE супрессорные эффекты в следующем поколении посредством индукции Т-клеточных идиотипических взаимодействий в формирующейся иммунной системе.

Подавление развития опухолей материнскими антителами

Линии мышей RF и SJL устойчивы к действию эндогенного экотропного вируса мышинной лейкемии (E-MULV). У них не развиваются спонтанные лимфомы, поскольку они наследуют неманделирующий материнский фактор устойчивости (MRF), тогда как у мышей других линий (AKR, DBA/2 и ST/b) отмечается высокая экспрессия E-MULV в селезенке и тимусе и лимфомы развиваются [25; 26]. Инфекция E-MULV у мышей линии MRF⁻ в неонатальном периоде приводит к постоянной экспрессии вируса, чего не происходит у MRF⁺ мышей. Однако с 30-дневного возраста инфицирование мышей MRF⁻ становится невозможным – мыши становятся MRF⁺ и передают это состояние потомству [26]. Эксперименты показали, что MRF в основном передается с молоком матери [26, 27]. Оказалось, что MRF – это материнские АТ к белку Gp70 оболочки E-MULV ([28] и личное сообщение Н. Hiai). Эти эксперименты позволили установить важность материнских АТ и отметить ключевое влияние короткого периода неонатального импринтинга, так как инфицирование E-MULV становится невозможной с 4-недельного возраста. О том же свидетельствует сохранение эффекта введения анти-Gp70 АТ лишь до 10-дневного возраста [28]. На другой модели исследовали развитие рака молочной железы у инбредных мышей линии А, подверженной заболеванию, в сравнении с устойчивыми линиями C57B1 и CBA [29]. Если новорожденные мышата линии А вскармливались устойчивыми к раку самками, мыши линии А жили существенно дольше, и лишь в 7,4% случаев у них развился рак молочной железы (против 83,6% у контрольных мышей линии А). На модели миеломы у BALB/c мышей было показано, что инъекция в неонатальном периоде антиидиотипов к миеломным АТ класса IgA из клеток MOPC 315 индуцировала Id-специфичные Т-клетки, обеспечивающие защиту от миеломных клеток у взрослых животных [30], что демонстрирует важность материнских АТ, которая определяется, в основном, индукцией Id-ответа В- и Т-клеточного звена. Поскольку эта функция не зависит от наличия патогена, можно заключить, что иммунорегуляторная способность материнских АТ, по меньшей мере, не менее важна, чем их пассивная защитная функция.

Материнские антитела защищают от фатальных вирусных заболеваний

Оказалось, что материнские АТ – Id и анти-Id, обеспечивают защиту от вирусных инфекций. Например, если матери получили нейтрализующие моноклональные АТ1 к F-гликопротеину (F-gp) респираторного синцитиального вируса (RSV), либо АТ1-специфичную *антиидиотипическую* сыворотку, в обоих случаях первичная иммунизация потомства очищенным F-gp RSV индуцировала вторичный иммунный ответ с образованием вируснейтрализующих АТ [24]. Даже в модельной системе у мышей, конститутивно экспрессирующих АТ к вирусу везикулярного стоматита, влияние импринтинга, опосредованное материнскими АТ проявлялось вплоть до взрослого состояния [31]. Эти и сходные данные ставят вопрос, насколько подобные результаты отражают естественные феномены.

Обратимся к истории. Полиомиелит известен со времен Древнего Египта (во время правления 18-й династии 1580-1350 гг. до н.э.) [32]. За прошедшие века вирус должен был получить повсеместное распространение. Однако размеров эпидемии болезнь достигла лишь к концу 19 века, относительно острый подъем заболеваемости последовал после 1905 г., и еще более драматический подъем был отмечен между 1944 и 1954 гг. [33]. Во многих учебниках 1955 год указан как год победы над полиомиелитом путем вакцинации, однако предшествующий рост заболеваемости требует объяснения. Мы полагаем, что изменения образа жизни привело к сдвигу инфицирования на возраст, в котором количество материнских АТ оказывается недостаточным. До этого (при раннем инфицировании в присутствии материнских АТ) заболевание у детей не развивалось и, напротив, создавался активный иммунитет к полиомиелиту [34]. Ситуация, аналогичная человеческому полиомиелиту, существует при энцефаломиелите Тейлера у мышей [34]. Заболевание не развивается, если вирус передается новорожденному с молоком самки, т.е. в то время, когда присутствуют материнские АТ.

Птичий инфекционный энцефаломиелит не был известен до 1930 г., когда он был впервые описан в Новой Англии (США). В течение следующих 20 лет болезнь распространилась по США и достигла Европы [35]. Возникновение заболевания было вызвано введением специфических мер гигиены в связи с большой скученностью животных. Вследствие этого, раннее естественное заражение вирусом не происходило (в период, когда материнские АТ могли обеспечить индукцию иммунитета).

Вирус желтой лихорадки эндемичен для тропических стран Африки и Америки. У коренного населения (дети, инфицированные вскоре после рождения в присутствии материнских АТ), у подавляющего большинства развивалась бессимптомная форма заболевания, оставляющая пожизненный иммунитет [36]. Как следствие, болезнь поражала почти исключительно иностранцев, недавно прибывших в эти страны. Яркий пример – эпидемия желтой лихорадки при строительстве Панамского канала, унесшей жизни более 100000 иностранных рабочих [36].

Таким образом, можно заключить, что данные экспериментов отражают реальность, поскольку они имеют подтверждение в обычной жизни.

Иммунный импринтинг материнскими антителами и аутоиммунные болезни

Ранний онтогенез является периодом выработки ауто толерантности, которая в норме поддерживается Т-зависимыми механизмами, включающими регуляторные Т-клетки. Формирование толерантности может быть нарушено тимэктомией на 3, но не на 5 день жизни (*у мышей*), что ведет к развитию разных аутоиммунных заболеваний. Выход из-под контроля и переключение на аутоагрессию может происходить при микробных инфекциях или индуцироваться во взрослом состоянии иммунизацией смесью аутоантигена с сильным адъювантом. Если а-АТ, связанные с аутоиммунными заболеваниями передаются от матери к потомству – они могут существенным образом влиять на его иммунологическую судьбу.

1) Миастения гравис (МГ) – аутоиммунное заболевание, при котором мишенью а-АТ являются ацетилхолиновые рецепторы (AChR) нейромышечных контактов. Анти-AChR – гетерогенная группа молекул (их состав отличается у разных пациентов), реагирующих с различными эпитопами AChR. Показано, что материнские АТ к AChR связываются с фетальными AChR и вызывают тяжелое аномалию развития – множественный врожденный артрогрипоз (МВА) [37], проявляющееся контрактурами суставов, которые определяются при рождении или до того. По-видимому, это связано с недостатком двигательной активности плода *в матке* и может приводить, в тяжелых случаях, к смерти плода или мертворождению. Сывороточные АТ детей, страдающих МВА, селективно связывались и ингибировали функцию фетальных AChR, но не AChR взрослых. То, что материнские АТ к AChR - причина развития МВА подтверждается и на лабораторных моделях у животных [38].

2) В гнотобиотических или стерильных условиях у мышей линии NOD спонтанно развивается инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД). Причем, как иммуностимуляция [39], так и ингибирование передачи материнских АТ потомкам F1 [40] прерывало развитие ИЗСД. Иными словами, в раннем онтогенезе материнские АТ являлись решающим условием для разрушения β -клеток панкреатических островков. Более того, эти данные свидетельствуют, что важность воздействия материнских АТ или соответствующая иммуностимуляция, может преобладать над генетической предрасположенностью к заболеванию.

3) При синдроме Шегрена АТ атакуют небольшие консервативные ядерные РНК-связывающие белки Ro и La (аутоантигены SSA и SSB). Перенос таких АТ от матери к ребенку может вести к аутоиммунным синдромам новорожденных, одним из которых является врожденная блокада сердца (ВБС). Обычно она бывает транзиторной, однако может перейти в постоянное функциональное нарушение спустя длительное время после исчезновения материнских АТ [41]. Предполагается, что ВБС является пассивно приобретаемым аутоиммунным заболеванием, и что без воздействия материнских АТ плод развивался бы нормально. Однако патогенность материнских а-АТ или вторично индуцированных эффекторов, например, Т-клеток при первичном синдроме Шегрена или СКВ [42] всецело зависит от уникальных черт иммунной системы отдельного индивида. Это подтверждают два наблюдениями: а) несмотря на присутствие в сыворотке АТ к Ro/SSA и La/SSB, большинство матерей, дети которых больны ВБС, не имеют симптомов заболевания, [41]; б) генетически идентичные монозиготные близнецы, несмотря на и воздействие одинаковых материнских АТ, дискордантны по развитию ВБС [41; 43].

4) Аутоиммунная болезнь яичников (АБЯ) индуцируется иммунизацией гликопротеином 3 Zona pellucida (ZP3) или полученными из нее пептидами с полным адьювантом Фрейнда [44;45]. Медиаторами заболевания являются Zp3-специфичные CD4+ аутоагрессивные Т клетки. Перенос ZP3-специфичных а-АТ от матери плоду сходным образом запускает развитие Т-опосредованной АБЯ новорожденных (АБЯН). Согласно наблюдениям АБЯН может наступить не позже 5 дня жизни, что соответствует неонатальному ИИ. Устойчивость к индуцируемой матерью АБЯН после 6 дня опосредуется CD4+CD25+ регуляторными Т клетками [44].

Заключение

Итак, материнские АТ являются носителями информации, и (помимо своей пассивной защитной функции) передают потомству как позитивные, так и негативные свойства иммунной памяти матери. Тем не менее, иммунная система не является *Perpetuum mobile*, и для полной реализации материнской информации необходима антигенная стимуляция из окружающей среды. Это было продемонстрировано в экспериментах с опосредованной IgG матери супрессией IgE не позже 4-5 месячного возраста. Наблюдениями на людях подтверждают это – пребывание в сельской местности на первом году жизни обеспечивает наилучшую защиту от развития аллергии впоследствии [46].

References

- [1] Tada T, *Annu Rev Immunol* (1997) 15: 1-13.
- [2] Penn AA and CJ Shatz, *Pediatr Res* (1999) 45: 447-58.
- [3] Lemke H et al, *Trends Immunol* (2004) 25: 180-6.
- [4] Kandel ER et al, *Essentials of Neural Science and Behavior*, Appleton & Lange, Norwalk, 1995.
- [5] Doren A, in: Pertz GH et al, (Eds.), *Historiographs of the german prehistory*, Verlag der Dykschen Buchhandlung, Leipzig, 1914.
- [6] Janeway, CA Jr., *Microbes Infect* (2001) 3: 1167-71.
- [7] Coutinho A, *Scand J Immunol* (1995) 42: 3-8.
- [8] Poletaev AB et al, *J Autoimmun* (2008) 30: 68-73.
- [9] Jerne NK, *Ann Immunol (Paris)* (1974) 125C: 373-89.
- [10] Janeway CA Jr., *Proc Natl Acad Sci U S A* (2001) 98: 7461-8.
- [11] Jiang H and L Chess, *Annu Rev Immunol* (2000) 18: 185-216.
- [12] Lemke H and H Lange, *Adv Immunol* (2002) 80: 203-41.
- [13] Schuler W et al, *Eur J Immunol* (1982) 12: 120-5.

- [14] Rademaekers A et al, Scand J Immunol (2001) 53: 240-4.
- [15] McKeever U et al, J Immunol (1997) 159: 5936-45.
- [16] Gustafsson E et al, Biol Reprod (1994) 51: 1173-80.
- [17] Hanson LA et al, Ann N Y Acad Sci (2003) 987: 199-206.
- [18] Lemke H et al, Eur J Immunol (1994) 24: 3025-30.
- [19] Lange H et al, Scand J Immunol (1999) 49: 55-66.
- [20] Jarrett E and E Hall, Nature (1979) 280: 145-7.
- [21] Seeger M et al, Eur J Immunol (1998) 28: 2124-30.
- [22] Lange H et al, Eur J Immunol (2002) 32: 3133-41.
- [23] Stein KE and T Söderström, J Exp Med (1984) 160: 1001-11.
- [24] Okamoto Y et al, J Immunol (1989) 142: 2507-12.
- [25] Mayer A et al, Cell (1980) 19: 431-6.
- [26] Melamedoff M et al, J Exp Med (1983) 158: 506-14.
- [27] Hiai H et al, J Natl Cancer Inst (1987) 79: 781-7.
- [28] Hiai H, Pathol Int (1996) 46: 707-18.
- [29] Bittner JJ, Am J Cancer (1939) 35: 90-7.
- [30] Gorczynski R et al, J Natl Cancer Inst (1986) 77: 801-7.
- [31] Fink K et al, Eur J Immunol (2008) 38: 90-101.
- [32] Flint SJ et al, Principles of Virology, ASM Press, Washington, D.C., 2004.
- [33] Nathanson N and JR Martin, Am J Epidemiol (1979) 110: 672-92.
- [34] Modrow S et al, Molecular Virology, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2003.
- [35] Dorn P, Handbook of Fowl Diseases, Ulmer Verlag, Stuttgart, 1971.
- [36] Winkle S, Cultural History of Epidemic Plagues, Artemis & Winkler, Düsseldorf-Zürich, 1997.
- [37] Vincent A et al, Ann N Y Acad Sci (1998) 841: 482-96.
- [38] Jacobson L et al, Ann N Y Acad Sci 841 (1998) 565-7.
- [39] Leiter EH et al, Immunol Today (1990) 11: 147-9.
- [40] Greeley SA et al, Nat Med (2002) 8: 399-402.
- [41] Buyon JP and RM Clancy, Curr Opin Rheumatol (2003) 15: 535-41.
- [42] Routsias JG et al, Mol Med (2002) 8: 293-305.
- [43] Cooley HM et al, Arthritis Rheum (1997) 40: 381-4.
- [44] Setiady YY et al, J Immunol (2003) 170: 4656-64.
- [45] Setiady YY et al, Int Rev Immunol. 24 (2005) 227-45.
- [46] Riedler J et al, Lancet (2001) 358: 1129-33.

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ АДГЕЗИИ МЕЖДУ КЕРАТИНОЦИТАМИ КОЖИ ПРИ ПУЗЫРЧАТКЕ

Лысенко А.А., Дементьева Д.В., Косинский Ю.А., Ефремов Р.Г., Некрасов А.Н., Свирщевская Е.В.

ИБХ РАН, Москва, Россия

Пузырчатка является аутоиммунным заболеванием, которое вызывается формированием аутоантител к молекулам адгезии кератиноцитов кожи и слизистых оболочек десмоглеинам (ДСГ) 1 и 3. Различают вульгарную и листовидную формы пузырчатки, при которых в сыворотке крови больных выявляют антитела к ДСГ3 либо ДСГ1, соответственно. Механизмы нарушения адгезии до сих пор непонятны. Для их выяснения необходимо детальное знание строения и функционирования десмосом, в состав которых входят десмоглеины, а также десмоколлины (ДСК). Как ДСГ, так и ДСК относятся к семейству кадгеринов, формирующих плотные контакты между всеми типами эпителиальных клеток. ДСГ и ДСК имеют схожее с кадгеринами строение и ряд отличий. Все кадгерины имеют внеклеточный участок, трансмембранный и внутриклеточный, связанный с цитоскелетом клетки через ряд промежуточных белков. Классические кадгерины связываются через ряд белков с актином, образующим тонкие филаменты цитоскелета, а десмосомальные белки с кератинами, образующими промежуточные филаменты цитоскелета. Классические кадгерины формируют адгезионные перетяжки, соединяющие соседние клетки в местах контакта; при этом клетки разных типов эпителия экспрессируют специфический для данного эпителия вид кадгерина. Адгезия между клетками обеспечивается формированием гомодимеров между молекулами кадгеринов соседних клеток за счет устойчивого контакта первого дистального домена кадгеринов по типу

«двойной ключ-замок», где ключами являются 1-7 аминокислоты каждой молекулы, а замки формируются гидрофобной полостью между бета-складками первого домена. Классические кадгерины (Е-, Р-, R-, N-, С-) образуют преимущественно гомодимеры, что является одним из механизмов дифференциации эпителиальных слоев. В отличие от классических кадгеринов, десмосомальные белки адгезии собираются на поверхности клеток в плотно упакованные обособленные структуры – десмосомы, состоящие из 7000-8000 молекул десмосомальных кадгеринов. В состав десмосомы обязательно входят ДСГ и ДСК, при этом существует, по крайней мере, три типа ДСГ и ДСК: 1, 2 и 3. В разных слоях эпидермиса кожи и многослойного эпителия слизистых в состав десмосом могут входить до трех пар десмосомальных кадгеринов, но всегда присутствует хотя бы одна из пар: ДСГ1-ДСК1 или ДСГ3-ДСК3. Антитела к ДСГ1 нарушают адгезию в поверхностных слоях эпидермиса, где экспрессируется только пара ДСГ1-ДСК1; а антитела к ДСГ3 - нарушают адгезию между клетками базального слоя слизистой полости рта, где экспрессируется только пара ДСГ3-ДСК3. На настоящий момент неизвестно, могут ли десмосомальные кадгерины формировать гетеродимеры такие как ДСГ1-ДСК1, или, также как классические кадгерины, формируют только гомодимеры ДСГ1-ДСГ1; ДСК1-ДСК1 и т.д. Так как в составе десмосомы всегда есть и ДСГ и ДСК, то, вероятно, эти белки могут формировать как гомодимеры (по аналогии с классическими кадгеринами), так и гетеродимеры (из-за обязательного присутствия обоих белков в десмосоме). Целью работы была проверка этого предположения с помощью молекулярного моделирования.

Табл. 1. Оценочные коэффициенты предпочтительного существования мономеров ДСГ3, ДСК3, гомодимеров ДСГ3-ДСГ3, ДСК3-ДСК3 и гетеродимеров ДСГ3-ДСК3 на основе модели их 3D пространственной конфигурации

1	Мономер 2	Гомодимер 3	dZ1* 4	Гетеродимер 5	dZ2 6	dZ2- dZ1 7	Среднее 8
На основе кадгерина 20 курицы							
ДСГ3	25,0	34,0	+9,1	27,8	+2,8	-6,3	-5,9**
ДСК3	28,9	39,7	+10,8	40,1	+11,2	+0,4	
На основе кадгерина E человека							
ДСГ3	30,0	33,9	+3,9	35,9	+5,9	+2,0	+2,1
ДСК3	32,7	38,9	+6,3	38,9	+6,2	+0,1	

*dZ1 = разница коэффициентов между гомодимером и мономером, а dZ2 = разница коэффициентов между гетеродимером и мономером.

** Среднее для димера.

Табл. 2. Разница оценочных коэффициентов для ДСГ1 и ДСК1, посчитанная на основе кадгерина E человека

Гомодимеры	dZ1	Гетеродимеры	dZ2	dZ2- dZ1	Среднее
ДСГ1-ДСГ1	+3,8	ДСГ1-ДСК1	+6,4	+2,6	+1,3
ДСК1-ДСК1	+8,3	ДСК1-ДСГ1	+7	-1,3	

Для ряда классических кадгеринов известны кристаллографические структуры первого домена и гомодимеров. Данных для десмосомальных кадгеринов нет. Нами были построены модели гомо- и гетеродимеров десмосомальных кадгеринов на основе структур куриного кадгерина 20 и E-кадгерина человека и получены оценочные коэффициенты предпочтительного существования мономеров и димеров десмосомальных кадгеринов (приведены в табл. 1 и 2). Показано (Табл. 1), что формирование димера во всех случаях предпочтительнее мономерной формы этих белков, о чем свидетельствуют положительные значения dZ в колонках 4 и 6. Это подтверждает «липкость» данных молекул, способствующих их димеризации. Оценка вероятности формирования гетеродимера ДСГ3-ДСК3 по сравнению с гомодимерами ДСГ3-ДСГ3 и ДСК3-ДСК3 проведена в колонке 7, где сравнивали разницу коэффициентов гомо- и гетеродимеризации. При по-

строении димера на основе данных кадгерина E человека, но не куриного кадгерина 20, для десмосомальных кадгеринов ДСГ3 и ДСК3 нет запрета на формирование гетеродимеров, что выражается в положительной разнице dZ2- dZ1 и среднем значении для димера +2,1 (колонка 8). С точки зрения структурных взаимодействий десмосомальные кадгерины могут формировать с равной вероятностью гомо- и гетеродимеры.

УЧАСТИЕ АУТОАНТИТЕЛ В РЕАЛИЗАЦИИ КОМПЕНСАТОРНОПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ СЕВЕРА

Г.Т.Лютфалиева., Л.К.Добродеева

Институт Физиологии Природных адаптаций УрО РАН, г. Архангельск, Россия

Известно, что комплекс неблагоприятных климатических параметров создает у жителей Севера условия для формирования хронического антигенного стресса и ауто-сенсibilизации (Добродеева Л.К., 1990,2004). Это сопровождается увеличением уровня разных аутоантител (а-АТ) при переутомлении, повышенной физической нагрузке и беременности (Шубик В.М., 1982, 1985; Зайнуллин А.А. и др., 2003) и зависит от накопления в организме промежуточных метаболитов (Шубик В.М., 1976; Добродеева Л.К., 1988). Мы определяли спектр а-АТ у практически здоровых северян, их концентрации и пределы колебания относительно уровней нормы. Сделана попытка оценить взаимосвязь содержания а-АТ с влиянием неблагоприятных климатогеографических условий (сезона года и фотопериодичности) северного региона.

Материалы и методы. Исследовали иммунный гомеостаз у 158 практически здоровых лиц в возрасте от 20 до 75 лет, проживающих в г. Архангельске и Архангельской области. Анализ влияния фотопериодичности на динамику содержания а-АТ проводили в период биологических сумерек (ноябрь, февраль) и в период восстановления естественной солнечной радиации (май). Определяли а-АТ к двухспиральной ДНК (ds-DNA), нуклеопротеидам (RNP), тромбоцитам методом ELISA, используя реактивы ENA Profile фирмы Bio-Rad (США). Сывороточные а-АТ к лейкоцитам и эритроцитам определяли в реакциях лейкоагглютинации и гемагглютинации.

Результаты и обсуждение. Повышенный уровень а-АТ к ДНК, рибонуклеопротеидам, тромбоцитам, аутогемагглютининов, аутолейкоагглютининов в среднем у северян обнаружен у 31% практически здоровых людей. Чаще регистрируется повышение уровней аутолейкоагглютининов - 31,43%, а-АТ к ДНК - 26,79%, аутогемагглютининов - 18,37%, реже а-АТ к тромбоцитам – 12,5% и нуклеопротеидам - 10,39%. В тоже время повышенные титры а-АТ в Санкт-Петербурге регистрируются в крови у 13% обследованных лиц, антинуклеарные а-АТ выявляют у 5% здоровых женщин Ленинградской области (Смирнов В.С.,Фрейдлин И.С.,2000). По данным зарубежных авторов, а-АТ к ДНК обнаруживаются в сыворотке крови практически здоровых людей в 2-8% случаев (Plotz P.H., 1983, Giang Phan, 2002). У жителей средней полосы Сибири процент положительных титров лейкоагглютининов не превышает 18% (Шубик В.М., 1976). Таким образом, у практически здоровых жителей Заполярья частота выявления повышенных уровней а-АТ несколько выше, и также как и в менее суровых условиях, наиболее распространенным является аутосенсibilизация к лейкоцитам и эритроцитам. (Добродеева Л.К.,1990, 2001, 2004; Шубик В.М., 1976). Нами показано, что средние концентрации а-АТ у практически здоровых жителей Севера РФ не превышают физиологических пределов, однако границы колебания их значений смещены в сторону более высоких уровней. Содержание а-АТ к ds-DNA у практически здоровых варьирует от 22 до 94 МЕ/мл, среднее их содержание не превышает уровень физиологической границы (50МЕ/мл) и составляет 44,8 МЕ/мл. Средний уровень а-АТ к нуклеопротеидам составляет 0,6 МЕ/мл, пределы их колебаний оказались очень широкими (0,18 - 1,66 МЕ/мл). Средние уровни а-АТ к тромбоцитам и эритроцитам также не превышают физиологический предел, соответственно 3,9 и 4,7 log₂. Содержание аутолейкоагглютининов несколько выше (p<0,05) и составляет 4,9 log₂, пределы колебаний данных а-АТ находятся в диапазоне

3,3 - 8,3 log₂. Средние уровни почти всех исследуемых а-АТ у больных вне зависимости от характера патологии были выше физиологических и отличались от средних уровней практически здоровых лиц (p<0,001). Однако пределы колебаний их содержания достоверно не отличались, что свидетельствует о широких пределах колебаний уровней а-АТ у здоровых жителей Севера. Большая вариабельность концентраций а-АТ у здоровых лиц свидетельствует об адаптивных возможностях организма в регуляции гомеостаза. Возможно, что именно сокращение границы между нормой и патологией увеличивает степень риска развития аутоиммунопатологии на Севере.

Вероятно, аутосенсibilизация отражает напряжение иммунных механизмов регуляции в неблагоприятных климатогеографических условиях. Чем дискомфортнее зона проживания, тем выше концентрация а-АТ, тем шире и разнообразнее их спектр. Сезонные колебания иммунологических показателей более всего демонстрируют их зависимость от климатических воздействий. Как известно, к неблагоприятным климатическим факторам, влияющим на увеличение концентраций продуктов тканевого обмена со свойствами аутоантигенов, относятся охлаждение, резко выраженная фотопериодика и напряженный иономагнитный режим. В октябре месяце на Севере солнечная активность в 5 раз меньше, чем в средней полосе России, а в следующие 4 месяца (ноябрь, декабрь, январь, февраль) естественная радиация солнца практически отсутствует, недостаток света сохраняется до апреля. Кроме того, воздействие низких температур в зимний период, способствует повышению содержания аутоантигенов и, соответственно, а-АТ (Шубик В.М., 1976). В полярную ночь заметно подавлены практически все иммунные реакции; с наступлением полярного дня, напротив, наблюдается резко выраженная активизация иммунных механизмов. Установленная нами выраженная зависимость частоты выявления и концентрации в сыворотке крови а-АТ от сезона года подтверждает прямую связь интенсивности образования а-АТ с воздействием климатических факторов. Частота обнаружения повышенных концентраций а-АТ в ноябре (21,8%) возрастает к концу биологических сумерек в феврале до 46,3% ($\chi^2=8,83$, p<0,01) и снижается в период восстановления естественного солнечного освещения в мае. Частота регистрации аномальных концентраций а-АТ к ДНК достоверно увеличивается с 6,4% в ноябре до 41,5% в феврале, к тромбоцитам - с 3,5% в ноябре до 75% в феврале и снижаются в мае до 38,5% и 8,3% соответственно, к нуклеопротеидам - с 10,5% в ноябре до 16,3% в феврале (в мае аномальные уровни а-АТ к нуклеопротеидам не регистрировались). Повышенные титры аутолейкоагглютининов, аутогемагглютининов обнаруживаются в 2-3 раза чаще в конце периода биологических сумерек. Средняя концентрация а-АТ к ds-DNA также достоверно возрастает в феврале с 38,7 МЕ/мл до 49,7 МЕ/мл (p<0,001), сохраняясь в мае фактически на том же уровне - 46,4 МЕ/мл (p<0,01). Содержание а-АТ к тромбоцитам увеличивается в ноябре-феврале и снижается в мае. Аналогичные изменения наблюдаются в динамике содержания всех исследуемых а-АТ. Подтверждена зависимость содержания а-АТ от сезона и фотопериодичности у жителей Севера Европейской территории РФ: средние концентрации и частота регистрации аномальных концентраций а-АТ нарастают с периода биологических сумерек в ноябре, достигают максимума в феврале и снижаются в мае, в период восстановления естественной солнечной активности. Методом факторного анализа установлено, что сезон является независимым фактором, влияющим на содержание а-АТ к ДНК, к тромбоцитам и аутогемагглютининов.

В группе лиц с повышенным содержанием а-АТ к нуклеопротеидам среднее содержание и частота регистрации повышенных концентраций других изучаемых а-АТ были достоверно выше. Данная солидарность не случайна, ибо активизация образования а-АТ происходит в результате повышения интенсивности обменных, репаративных или регенеративных процессов и накопления продуктов тканевого обмена, что разрешается композиционной выработкой целого комплекса а-АТ. Следствием высокой фоновой иммунной активности на Севере является смещение возрастных изменений в системе иммунитета, что проявляется торможением его формирования у детей и более ранним

проявлением признаков сокращения резервных возможностей регуляции иммунного гомеостаза. Сравнение содержания а-АТ к ds-DNA в сыворотке крови здоровых людей разных возрастных групп выявило рост их содержания с возрастом. Наиболее значимое увеличение регистрируется с 60 лет вне зависимости от пола. Уровень а-АТ к ds-DNA в группе 50-59 лет составлял 42,6 МЕ/мл, в группе 60-75 лет - 50,7 МЕ/мл и достоверно отличается от других возрастных групп ($p < 0,01$). Частота регистрации повышенных концентраций а-АТ в старшей возрастной группе составляет 41,7% и отличается от регистрируемой в возрастной группе 20-29 лет (8,33%). В других возрастных группах отличий от генеральной совокупности обнаружено не было. Установлена прямая корреляция возраста и содержания а-АТ ($r = 0,43$). При сравнении уровня содержания и частоты повышенных концентраций а-АТ у мужчин и женщин вне зависимости от возраста достоверных различий не выявлено. Литературные данные по этому вопросу единичны и очень разноречивы. Однако в публикациях последних лет подчеркивается, что в условиях физиологической нормы осуществляется постоянная продукция а-АТ к огромному числу внеклеточных, мембранных, внутриклеточных и внутриядерных антигенов, причем уровни синтеза и секреции таких АТ отличаются очень небольшими индивидуальными вариациями и мало зависят от пола (Полетаев А.Б., 2002). Полученные результаты свидетельствуют, что повышенное содержание а-АТ в определенных пределах является нормальной физиологической реакцией, направленной на сохранение гомеостаза, на фоне возрастных, сезонных нейрогормональных и метаболических процессов.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ К ПОЧЕЧНЫМ АНТИГЕНАМ У ДЕТЕЙ

Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш.

ГОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия

Диагностика пиелонефрита (ПН) у детей первых месяцев жизни и, особенно у новорожденных, представляет известные трудности в связи с малосимптомностью и неспецифичностью клинической картины. Более чем у 2/3 детей ПН выявляется только при целенаправленном исследовании, что свидетельствует о большой частоте латентного течения ПН у детей раннего возраста. Известно, что дистрофические и деструктивные изменения клеток паренхимы почек возникают задолго до клинической манифестации ПН. В нашей работе изучались изменения сывороточного содержания аутоантител (ауто-АТ) к белкам почечной паренхимы как ранний доклинический признак патологического процесса с высоким риском развития ПН у детей.

Цель: изучить нарушения в продукции естественных нефротропных ауто-АТ на доклиническом этапе развития ПН у детей раннего возраста.

Пациенты и методы исследования: Под наблюдением находились 56 детей с рождения до 2,5 лет жизни. Все дети были рождены от матерей с гестационным ПН и отягощенным акушерским анамнезом, что является фактором риска развития ПН у детей. Контрольную группу составили 10 детей, рожденных у здоровых матерей без признаков заболеваний органов мочевой системы. У всех детей в сыворотке крови дважды определялся уровень естественных ауто-АТ класса Ig G к белкам паренхимы почек - KiM-05-40, KiM-05-300, KiS-07-120 с использованием иммуноферментных тест-систем ЭЛИ-Нефро-Тест.

Результаты: Среди новорожденных детей 37,5% уже к рождению имели аномально высокий уровень нефротропных ауто-АТ. Причем, обычно (в 71,4%) у них отмечалось одновременное повышение уровней всех исследуемых ауто-АТ. При повторном исследовании в 6 месяцев жизни общая численность детей с повышенным уровнем нефротропных ауто-АТ возросла до 53,5%. Важно, что у всех детей, имевших патологические титры нефротропных ауто-АТ при рождении, и в 6 месяцев сохранялись высокие уровни тех же ауто-АТ. Установлена достоверная прямая связь концентрации ауто-АТ к почечным белкам в периоде новорожденности ($r = +0,86$) и наличия гестационного ПН у

матери. Таким образом, повышение нефротропных ауто-АТ у ребенка может быть обусловлено феноменом материнского иммунного импринтинга. Все дети из группы с патологически высокими значениями при рождении имели достоверно повышенный уровень естественных ауто-АТ к антигенам почек и в дальнейшем. При этом у них существенно повышался риск развития ПН в первые годы жизни. За период наблюдения отмечался рост частоты заболевания ПН от 10,7% в 12 мес. до 23,2% больных к 24 мес. жизни. Все заболевшие дети характеризовались высокими уровнями нефротропных ауто-АТ при рождении.

Заключение: избыточное содержание естественных нефротропных ауто-АТ в сыворотке крови у новорожденных детей может служить прогностическим (доклиническим) признаком развития ПН.

ЕСТЕСТВЕННЫЙ АУТОИММУНИТЕТ И ПРОГНОЗ ФЕРТИЛЬНОСТИ У ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Манухин И.Б., Геворкян М.А., Григорова Л.В., Скобенникова М.Д.

МГМСУ, Москва, Россия

Известно, что развитие гестационного процесса, как и ход эмбрио- и фетогенеза, в значительной степени определяются состоянием иммунной системы беременной (Dennenberd, 1983-1999). Последнее отражается, в частности, в продукции и сывороточном содержании множества аутоантител (а-АТ). Характерно, что содержание а-АТ разной специфичности приблизительно одинаково у разных здоровых лиц, в то время как развитие практически любой формы патологии (в том числе, затрагивающей репродуктивные функции), отражается в стойких изменениях продукции а-АТ определенной специфичности (Полетаев, 2007).

Целью исследования являлся анализ состояния иммунореактивности у женщин фертильного возраста с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ), страдающих бесплодием (БП).

Пациенты и методы. Иммунохимически исследовали 100 образцов сыворотки крови, полученных от пациенток с БП / НГЭ (возраст $27,3 \pm 1,6$ лет). Всем пациенткам проводили лапароскопию с целью диагностики и лечения бесплодия. По результатам лапароскопии были выделены следующие группы больных: I группа - 38 пациенток с НГЭ I степени распространения (наличие мелких эндометриоидных образований на поверхности яичников, брюшине прямокишечно-маточного пространства без кистозных полостей), II группа – 34 пациентки с НГЭ II степени распространения (эндометриоидная киста одного яичника размером до 5-6 см с мелкими эндометриоидными включениями на брюшине малого таза, незначительный спаечный процесс в области придатков матки без вовлечения кишечника), III группа - 28 пациенток с наружным генитальным эндометриозом III-IV степени распространения (эндометриоидные кисты обоих яичников разной величины, эндометриоидные гетеротопии небольших размеров на серозном покрове матки, маточных труб и париетальной брюшине малого таза, выраженный спаечный процесс в области придатков матки с частичным вовлечением кишечника). Перед операцией у женщин брали образцы крови и с помощью метода ЭЛИ-П-Комплекс (Полетаев, 2007) оценивали сывороточное содержание естественных а-АТ класса IgG направленных к ХГЧ, двуспиральной ДНК, бета2-гликопротеину I, антиидиотипов бета2-гликопротеина I, Fc-фрагментам IgG (ревматоидный фактор), коллагену, белку S100 и белку МР-65. В качестве контроля исследовали образцы сыворотки крови от 20 практически здоровых женщин (возраст 18-39 лет), не имевших осложнений акушерского анамнеза. Постоперативное лечение назначалось с учетом изменений в содержании а-АТ и включало иммунокорректирующую терапию. При избытке АТ к бета2-гликопротеину и ДНК пациенткам назначали гестагены (Дюфастон по 20 мг в сутки) с 16 по 25 день цикла до наступления беременности и продолжали до 12 недель беременности, и антиагреганты (аспирин, под контролем коагулограммы). При повы-

шенных а-АТ к бета2-гликопротеину и ХГЧ назначались антикоагулянты (в зависимости от показателей коагулограммы). Пациенткам с гипореактивным состоянием назначали виферон (свечи по 500000 ед 1 раз/сут. per rectum 10 дней).

Результаты и обсуждение. Для больных НГЭ была характерна повышенная соматическая и инфекционная заболеваемость, что свидетельствует о снижении общей резистентности организма и о взаимном отягощении патологических процессов, связанных, по крайней мере, отчасти, с нарушениями иммунорегуляции. Действительно, по показателям а-АТ, определяемым методом ЭЛИ-П-комплекс, все женщины контрольной группы (100%) относились к нормореактивным (уровни всех 8 определявшихся а-АТ находились в диапазоне нормальных значений -30... +20 усл.ед.). В тоже время среди больных с БП/НГЭ к нормореактивным относилось лишь 40% пациенток. К гиперреактивным (т.е. с аномально повышенным содержанием а-АТ хотя бы одной специфичности) относилось 42%, а к гипореактивным, с аномально низким содержанием а-АТ хотя бы одной специфичности - 18% пациенток (из них 4% отличались резко выраженной иммуносупрессией). Состояние иммунореактивности больных НГЭ зависело от длительности заболевания, но не от степени распространения эндометриоза. Проведенное лечение (хирургическая лапароскопия как монотерапия при I степени распространения НГЭ, или комбинированное лечение при НГЭ II, III-IV степени распространения (хирургическая лапароскопия + агонисты гонадотропин-рилизинг гормона) + дифференцированная терапия с учетом данных иммунореактивности), позволили восстановить нарушенные репродуктивные функции у значительного числа женщин, ранее страдавших бесплодием. В течение последующих 12 месяцев (от начала лечения) беременность наступила у 61% наблюдавшихся пациенток. К настоящему времени беременность закончилась срочными родами у 45 пациенток; в одном случае отмечалось самопроизвольное прерывание беременности (на сроке до 12 нед.). Следует отметить, что наиболее перспективными по лечению бесплодия были женщины, исходно отличавшиеся патологически повышенным уровнем изучавшихся а-АТ (гиперреактивные; в результате их лечения беременность наступила в 57% случаев). Пограничное положение занимали пациентки с умеренной гипореактивностью (35% беременностей). Наименее перспективную группу составляли больные с резко выраженной гипореактивностью. У этих пациенток (4% от всех обследованных) беременностей не наступило.

Характерно, что исходно измененное содержание исследуемых а-АТ возвращалось к нормальным значениям по мере выздоровления (на фоне успешного лечения). Эти наблюдения можно использовать для мониторинга за эффективностью и достаточностью терапии и подбора индивидуальных схем лечения. При этом динамику показателей ЭЛИ-П-Комплекса можно рассматривать как интегральный показатель, отражающий функциональное состояние репродуктивной системы женщины.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1В И ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА МЕХАНИЗМЫ ЗАВИСИМОГО ПОВЕДЕНИЯ

А.Ф. Мещеряков

ГУ НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина РАМН, Москва, Россия alex_maf@mail.ru

Предрасположенность к формированию зависимости от психоактивных веществ связана со специфичностью “метаболической памяти”, фиксированной в геноме и определяющей уровень активности межклеточных мессенджеров. Цель исследования. Анализ нейробиологических механизмов трансформации биологического влечения в специфическую патологическую зависимость. Полученные данные показывают, что на уровне гипоталамических структур происходит качественная оценка характера подкрепления. Интерлейкин-1 β (И-1 β) и интерлейкин-2 (И-2) приводят к изменению активности нейронов. Микроионофоретическое подведение в перинеуронное пространство интерлейкина-1 β или интерлейкина-2 сопровождается снижением частоты и регуляризацией импульсной активности гипоталамических нейронов. Развитие зависимости от психоактивных веществ

(морфина, кокаина, этанола) приводит к изменениям функциональной значимости П-1β и П-2 для нервных клеток латерального гипоталамуса. Каскад перестроек в пептидных и медиаторных системах мозга характеризует формирование зависимости от наркотических веществ. Повторяющееся воздействие психоактивных веществ, обладающих высоким положительным подкрепляющим (эйфоригенным) потенциалом (кокаин, морфин, этанол), на нервные клетки мозга приводят к изменениям мембранных комплексов нервных клеток. Последнее может являться причиной переорганизации чувствительности нейронов к П-1β и П-2. Эти данные дают основание предположить, что П-1β и П-2 принимают непосредственное участие в нейробиологических механизмах трансформации естественных биологических мотиваций во влечение к психоактивным веществам. Устойчивость к эмоциональным стрессорным воздействиям, лежащая в основе формирования влечения к психоактивным веществам, может модулироваться этими пептидами.

МЫШИ CBRB КАК МОДЕЛЬ ИМПЕТИГО И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ АУТОИММУННАЯ ПРИРОДА И ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ

Е. В. Моисеева¹, Н. В. Нефедова², Т. С. Калинина³, А.А. Литвин³, С.В. Стовбун³, В.И. Сергиенко³

¹ИБХ РАН, Москва, Россия; ² Государственный университет прикладной биотехнологии, Москва, Россия; ³ Исследовательский институт физико-химической медицины МЗ РФ, Москва, Россия

Линия мышей CBRB-Rb(8.17)1em (CBRB) сингенна линии мышей-долгожителей CBA/CaLac и отличается от нее гомозиготной мутацией Робертсоновского типа и 50% частотой возникновения рака молочных желез у самок. По мере старения самки при содержании в нормальных условиях постепенно теряют волосяной покров на спине, у них развиваются множественные поражения (изъязвления) кожи в области загривка и спины. Это поразительно точно воспроизводит синдром «ошпаренной кожи» человека (СОК) Локализованная форма дерматита постепенно ведет к развитию генерализованной стафилококковой инфекции и гибели животных. Если животные выживают, у большинства из них после 16 месяцев жизни развиваются дискинезия, ригидность и прогрессирующий тремор задних конечностей, т.е. симптомы, характерные для болезни Паркинсона (БП). Комплекс возникающ с возрастом кожных и нейродегенеративных симптомов позволяет использовать мышей CBRB как модель для изучения нейро-иммунных взаимодействий. У человека СОК встречается у детей и реже у пожилых людей, причем у последних заболевание плохо поддается лечению и приводит к гибели более половины пациентов. Предполагается связь между СОК и БП в старости. Так изъязвления на пролежнях встречаются чаще у пациентов с БП; при этом почти половина пациентов старше 75 лет умирает от септических инфекций.

Пробиотические культуры *Bacillus subtilis* и *Lactococcus lactis* ингибируют рост стафилококков. Мы предположили, что вызванные токсинами кожные проявления у мышей обратимы, а тремор конечностей обусловленный нейродегенеративными процессами предположительно аутоиммунной природы, вряд ли обратим. С целью проверки гипотезы мы тестировали действие спор *B. subtilis*, штамм 604Т (BS) и культуральной жидкости *L. lactis* (LL) отдельно и в сочетании, на проявления дерматита и БП на мышиной биомодели. BS вводили п/к 1 раз в 2 недели. LL самки получали ежедневно в пищу, начиная со второй недели эксперимента. Регистрировали вес, наличие аллопеции, площадь пораженного участка кожи, выраженность изъязвлений и тремора. О наличии лечебного эффекта судили по улучшению состояния и выживанию мышей. В конце эксперимента проводили микробиологический анализ крови и смывов с кожного покрова мышей с наименьшим весом (по 2 из каждой группы).

В течение первых 2 недель лечения пробиотик BS достоверно уменьшал признаки поражения кожи у леченых самок и улучшал их выживание. В последующие 2 недели после добавления пробиотика LL наблюдали синергический эффект BS и LL на проявления импетиго при слабом терапевтическом эффекте BS и отсутствии лечебного эф-

фекта LL. Пробиотики снижали уровень стафилококков в крови и на коже. При этом пробиотики ни в сочетании, ни по отдельности, не влияли на признаки БП.

Природа БП человека остается не ясной. Инфекционная и аутоиммунная природа заболевания предполагаются, но поиски этиологического фактора результатов не дали. Это наводит на мысль о существовании иных механизмов нейротоксических эффектов. Известно, что ряд инфекционных агентов вызывают локальное воспаление в органе-мишени (импетиго в случае стафилококка), перерастающее в аутоиммунный ответ и хроническое воспаление. Получены данные о том, что системные воспалительные реакции вносят вклад в проявление местных реакций иммунитета в мозге с выбросом биологически активных веществ, токсичных для нейронов и способствующих нейродегенерации. Два возрастных пика СОК (маленькие дети и пожилые) позволяют предположить, что в раннем возрасте острое инфекционное воспаление может служить фактором, в дальнейшем предрасполагающим к развитию нейродегенеративных заболеваний. При этом встреча иммунной системы с тем же возбудителем в старости играет роль триггера развития паркинсонизма. С этой точки зрения, любой инфекционный агент, вызывающий хроническую системную воспалительную реакцию (стафилококки могут быть одним из них), может являться каузальным агентом БП.

ФЕНОМЕН АУТОРЕАКТИВНОСТИ ПРИ ГЕМАТОГЕННОМ ОСТЕОМИЕЛИТЕ

Москалец О.В., Машков А.Е., Слесарев В.В.

МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского, Москва, Россия

Известно, что выявление аутоантител (а-АТ) не всегда ассоциируется с каким-либо конкретным аутоиммунным заболеванием. За последние десятилетия представления о биологической роли а-АТ существенно расширились, феномен аутореактивности описан при многих патологических состояниях, накоплено много данных о взаимосвязи инфекции и аутоиммунитета, однако до сих пор мало внимания уделяется мониторингу уровня а-АТ и их прогностическому значению.

Мы предположили, что аутоиммунные механизмы могут участвовать в патогенезе гематогенного остеомиелита (ГО) и быть одним из факторов, способствующих переходу заболевания в хроническую форму. Для подтверждения этого были обследованы дети с ГО (52 – с острым; ОГО, 22 – с хроническим; ХГО), в сыворотке крови которых определяли ряд органонеспецифичных а-АТ (к двуспиральной ДНК, ANA, ANCA, суммарные АТ к фосфолипидам). Нормальный уровень а-АТ встречался у 40,4% больных с ОГО и лишь у 27,7% с ХГО. Чаще всего при ОГО отмечался повышенный уровень ANCA (50%) и АТ к двуспиральной ДНК (21%), причем нарастание последних в динамике ассоциировалось с переходом в хроническую форму и развитием осложнений. При ХГО содержание АТ к ДНК было повышено в 54% случаев. Нормализация этого показателя ассоциировалась с клинической ремиссией. Одновременное повышение уровня разных а-АТ ассоциировалось с неблагоприятным течением заболевания. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** при у значительной части больных с ГО повышен уровень а-АТ к двуспиральной ДНК и ANCA, который коррелирует с активностью заболевания и может служить маркером неблагоприятного течения процесса.

АНТИНЕЙТРОФИЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАПОРАМИ

Москалец О.В., Русанова Е.В., Щербина В.И.

МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, Москва, Россия

Хронические запоры (ХЗ) составляют до 40% среди проктологических заболеваний у детей и распространенность этой патологии постоянно растет. Вопросы этиологии и патогенеза ХЗ до конца не изучены, не определены показания к хирургическому лечению ХЗ, вызванных долихосигмой, а результаты консервативного лечения остаются неутешительными. Предположено, что у ряда больных с ХЗ могут включаться аутоиммун-

ные механизмы (с развитием ответа на антигены кишечной стенки); при этом коstimулятором могут выступать бактериальные антигены, т.к. у большинства больных при запорах состав микрофлоры кишечника изменен.

Результаты. Обследовано 35 пациентов в возрасте от 2 мес. до 14 лет (15 - с долихосигмой, 13 - с функциональными запорами, 7 - с атрезией ануса), в сыворотке крови которых определяли ряд органонеспецифичных аутоантител (АТ к двуспиральной ДНК, ANA, ANCA, суммарные АТ к фосфолипидам). Ни в одном случае не обнаружены ANA или повышенный уровень АТ к ДНК. У 1 больной выявлено повышение АТ к фосфолипидам класса IgG. Что касается ANCA, то их содержание было повышено у 55%, причем у 16 были выявлены АТ к ВР1. Как известно, данный белок играет важную роль в киллинге грамотрицательных бактерий и нейтрализации их эндотоксина. АТ к ВР1 выявляются у больных с воспалительными заболеваниями кишечника и ассоциируются с более тяжелым течением заболевания и более тяжелыми органическими повреждениями. У 1 больного определялись повышение АТ к миелопероксидазе, у 1 - к катепсину G, а у 6 одновременно с анти-ВР1 выявлялись и другие виды ANCA (АТ к эластазе, лизоциму, лактофerrину). Корреляции между видом ХЗ (долихосигма, атрезия ануса, функциональные запоры), и характером дисбактериоза и частотой выявления ANCA обнаружено не было.

Заключение. Повышение проницаемости кишечной стенки в сочетании с дисбактериозом и, как следствие, антигенемия вызывают у многих больных гиперактивацию иммунной системы с включением аутоиммунных механизмов. Вероятно, прогностически этот вариант патологии менее благоприятен, а впоследствии можно ожидать у части таких детей генерализацию аутоиммунных реакций, то есть они имеют более высокий риск развития аутоиммунных заболеваний в будущем.

ПРОТИВОИНФЕКЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ И ПАТОГЕНЕЗ АУТОИММУННОГО СИНДРОМА

Ю.В. Несвижский

ГОУ ВПО Росздрава Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Россия

Одним из интересных и малоизученных феноменов современной иммунологии является аутоиммунитет. Это состояние, при котором в организме появляются антитела (АТ) и сенсибилизированные лимфоциты против собственных антигенов (ауто-АГ). Такие ауто-АТ и аутореактивные цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) могут вызывать прямое или опосредованное поражение тканей макроорганизма. Ауто-АТ как одно из проявлений иммунореактивности к собственным антигенам характерны для пациентов с заболеваниями аутоиммунной природы. Данные АТ выявляются в биологических средах организма больных с частотой, превышающей 80%.

Появление в организме клеток, продуцирующих ауто-АТ, расценивают как аномальное явление, сопряженное с возникновением заболевания. Как считают исследователи, такое событие может возникнуть, например, в результате соматических мутаций иммунокомпетентных и соматических клеток, эпигенетических мутаций биологических систем и тканевых АГ или нарушения естественных иммунологических барьеров, а также срыва различными факторами естественной толерантности или иммунорегуляции. Между тем, ауто-АТ были обнаружены и при некоторых заболеваниях инфекционной и неинфекционной этиологии, а также при целом ряде физиологических состояний - беременность, старость, стресс. В ряде случаев аутоиммунные реакции были обнаружены у клинически здоровых людей. Однако корректная трактовка полученных результатов была затруднена ввиду разнообразия применявшихся методов исследования и трудности сопоставления полученных результатов. Кроме того, аутоиммунитет оказался очень важным для адекватного формирования нормального иммунного ответа на алло-АГ. Так, по существующим представлениям феномен иммунологического распознавания основывается на предшествующей идентификации иммунокомпетентными клетками АГ-

детерминант собственного организма и сравнении их с чужеродными структурами. Антиидиотипические АТ также могут быть отнесены к разряду аутореактивных иммуноглобулинов.

Согласно клонально-селекционной теории Ф. Бернета (1959) в здоровом организме человека и животных нет аутоантигенореактивных клеток, в т.ч. лимфоцитов, продуцирующих ауто-АТ. Клоны таких клеток считают "запрещенными", не имеющими право на существование в здоровом организме и элиминируются на начальных стадиях онтогенеза. По мнению S. Tonegawa (1983) в организме человека и животных могут образовываться АТ к любым антигенным структурам и появляться клоны лимфоцитов, их продуцирующих. Поэтому принципиального запрета на появление аутоантигенореактивных и аутоантителопродуцирующих лимфоцитов нет. Вопрос об этиологии патологических аутоиммунных состояний остается открытым. Совершенно очевидно, что ведущая роль в индукции процесса принадлежит разнообразным паратипическим факторам. Среди них наиболее существенными считаются инфекционные, т.к. в большинстве случаев аутоиммунные процессы провоцируются или ассоциируются с микробной агрессией или персистенцией – вирусами, бактериями, простейшими, грибами. Наиболее часто сообщают об обнаружении у таких пациентов и экспериментальных моделей вирусных маркеров гепатита В, С, герпеса 1 типа, Эпштейн-Барр, Коксаки В4, эховируса 32 типа, вирусов кори, ретровирусов и др. Среди бактерий хорошо известна ассоциация аутоиммунных поражений соединительнотканной стромы с β -гемолитическим стрептококком группы А, хламидиями, сальмонеллами, йерсиниями, кампилобактерами, микобактериями и др. В поле зрения попала даже нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта.

В настоящее время рассматривают три механизма, при помощи которых инфекционные агенты могут запускать аутоиммунные нарушения: молекулярная мимикрия, неспецифическая поликлональная или опосредованная активация иммунной системы, в т.ч. как результат вирусной персистенции при хронических и медленных вирусных инфекциях.

Концепция «молекулярной мимикрии», предложенная Р. Домейном в 1964 г., основана на структурном сходстве между патогеном или его метаболитом и тканями макроорганизма. Это может проявиться на уровне аминокислотных последовательностей или структурных конформаций (т.н. гетероантигены). Домейн предположил, что микробы используют такой механизм для ухода от факторов иммунитета. Большое количество перекрестно реагирующих АГ обнаружено в структуре нормальной микрофлоры тела человека, что подтверждает идею Домейна. Сегодня концепция «молекулярной мимикрии» является наиболее популярным объяснением ассоциации инфекционного и аутоиммунного процессов. Известно, что ревматизм может быть спровоцирован инфекцией β -гемолитическим стрептококком группы А. В сыворотке крови этих пациентов обнаруживаются АТ против АГ сердца, суставов, мозга, кожи, мозга, почек, тимуса. Антисыворотки, полученные к АГ стрептококка, перекрестно реагируют с миозином, стромой тимуса, паренхимой почек. Введение АГ стрептококка индуцирует в эксперименте на животных поражение тканей сердца. В вирусах также обнаруживаются эпитопы, перекрестно реагирующие с молекулами макроорганизма. Так, вирус кори и герпеса имеют общие детерминанты с клеточными белками. Полимераза вируса гепатита В имеет сходные эпитопы с основным белком миелина. Было также показано, что около 4% противовирусных АТ способно взаимодействовать с АГ макроорганизма. Механизм опосредованной активации предполагает, что цитотоксические факторы макроорганизма способны уничтожить не только инфицированную клетку, но и ее случайных соседей. При хронической вирусной персистенции микроб может длительно паразитировать в основных стромальных клетках, что позволяет им уходить от иммунного надзора. Однако рано или поздно эти клетки будут идентифицированы системой

противовирусной защиты и уничтожены, что отразится на функции инфицированной ткани или органа. Примером является аутоиммунный миокардит и медленно прогрессирующая демиелинизация при аутоиммунном энцефаломиелите. В любом случае агрессия микробов зачастую становится причиной срыва естественной толерантности. Например, суперантигены инфекционных агентов могут нарушать межклеточную кооперацию, ложно активировать Т2-хелперы или потенцировать неконтролируемую В-клеточную гиперактивность в синтезе АТ и клонировании. Это еще раз доказывает важность инфекционного агента и противоинфекционного иммунитета в происхождении аутоиммунных нарушений. Поэтому в большинстве случаев последние следует рассматривать как осложнение инфекционного процесса.

В заключении хотелось бы обратить внимание на два аспекта. Первый - почему далеко не все инфекции осложняются аутоиммунными процессами? По-видимому, патогенетические акценты следует смещать в область нарушения системы комплемента и образования/элиминации иммунных комплексов. Второй аспект – почему у здоровых людей при наличии ауто-АТ не развивается патологический процесс? Анализ фактов убеждает, что теория «запрещенного» клона и «секвестированного» АГ неспособны корректно объяснить существование ауто-АТ у клинически здоровых людей и животных без аутоиммунного процесса. Если в здоровом организме в норме присутствуют антителопродуцирующие клетки, которые синтезируют ауто-АТ к широкому спектру ауто-АГ, то клоны этих лимфоцитов не могут считаться "запрещенными". Напротив, как считал П. Грабарь (1975), они являются нормальным морфологическим компонентом организма и постоянно в нем присутствуют, а не должны элиминироваться на ранних стадиях их онтогенеза. Численность данных клонов невелика, т.к. концентрация ауто-АТ в сыворотке крови низка, и признак достаточно надежно регистрируется только высокочувствительными методами исследования.

АУТОАНТИТЕЛА-ПРЕДСКАЗАТЕЛИ И АУТОАНТИГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Abner Louis Notkins

National Institutes of Health, National Institute of Dental and Craniofacial Research, Bethesda, MD 20892, USA, anotkins@mail.nih.gov

Введение

На протяжении большей части истории медицины врачи учились диагностировать и лечить болезни и оценивали их по тому, насколько хорошо все это делается. В наши дни такой подход начинает меняться или, по меньшей мере, дополняться. От врачей начинают требовать умения предсказать и предупредить болезнь. Идея предсказания будущего уходит корнями чуть ли не в самые истоки письменной истории. В Древней Греции предсказаниями занимался Дельфийский Оракул. Оракул входил в транс, вероятно, под действием вулканических газов, просачивающихся сквозь скалу под Храмом, и изрекал неоднозначные либо совершенно непонятные слова. Эти слова затем трактовались верховными жрецами, причем их интерпретация часто зависела от того, что хотела услышать публика. Со временем Дельфийского Оракула заменили хироманты и гадалки, которые пользовались магическими кристаллами, листьями чая или картами для своих предсказаний. Ближе к нашим дням врачи стали предпринимать попытки предсказывать будущие изменения в здоровье своих пациентов, но в отличие от Дельфийского Оракула или гадалок их предсказания основаны на доказательствах.

Аутоиммунные заболевания и предиктивные аутоантитела

Катализатором нового веяния явилась расшифровка генома человека, позволившая связать мутации единичного гена с развитием специфического заболевания. Однако многие генетически обусловленные болезни очень сложны и включают взаимодействие между многими генами. Такие комплексные по своей природе заболевания, многие из которых являются аутоиммунными, предсказать сложнее. В последние годы происходит

формирование нового подхода к предсказанию развития аутоиммунных болезней, и этот подход базируется на использовании аутоантител (ААТ).

Иммунная система, формировавшаяся сотни миллионов лет, защищает нас от сторонних пришельцев, таких как бактерии и вирусы. Однако в некоторых случаях, по недостаточно понятным причинам, иммунная система перенацеливается и атакует собственные ткани, что и приводит к развитию аутоиммунных заболеваний. Один из ярких примеров аутоиммунного заболевания – инсулинзависимый сахарный диабет 1 типа (СД1) – результат иммунного разрушения инсулинпродуцирующих бета-клеток поджелудочной железы, ведущего к повышению уровня глюкозы в крови и диабету. Несколько лет назад мы выделили и определили последовательность нового гена бета-клеток поджелудочной железы, который мы назвали IA-2. Белок IA-2 оказался главным аутоантигеном при СД1. С помощью рекомбинантной технологии был получен IA-2 и разработан чувствительный метод выявления ААТ к IA-2 с помощью радиоиммунопреципитации. Затем мы провели скрининг сотни сывороток от пациентов с СД1 и от здоровых лиц (контроль) и обнаружили ААТ к IA-2 почти в 70% вновь диагностированных случаев диабета, но менее чем в 1% контрольных случаев.

Обнаружение ААТ к IA-2 при установленном диагнозе подняло вопрос о том, когда эти ААТ появляются впервые, за какое время до начальных симптомов СД1? Такая информация сделала бы возможным лечение на предклинической стадии заболевания, задолго до развития тяжелых поражений. Чтобы получить эту информацию в нашей и других лабораториях были начаты ретроспективные исследования больших выборок здоровых людей. У них собирали образцы сыворотки и проводили наблюдение в течение 10 лет. При развитии каждого нового случая СД1, хранящаяся сыворотка извлекалась и проверялась на наличие ААТ к IA-2 и другим известным диабетическим аутоантигенам (напр., инсулину и GAD65). В результате было показано, что при выявлении ААТ одной «диабетической специфичности» риск того, что в течение 5 лет у обследуемого разовьется заболевание составлял примерно 10%. При выявлении ААТ двух специфичностей риск возрастал до 50%, а при наличии трех ААТ «диабетической специфичности» риск был еще выше (между 60% и 80%). Благодаря этим данным стало возможным выявлять группу риска развития СД1 для начала терапевтического вмешательства и оценки их эффективности (пока в рамках клинических исследований) задолго до того, как заболевание разовьется.

До открытия предиктивных ААТ исследования клинической эффективности мероприятий по профилактике СД1 провести было практически невозможно. В США риск заболеть СД1 составляет, примерно 1 на 400, но способа определить, кто конкретно из 400 человек заболеет раньше не было. Поэтому чтобы исследовать профилактическую эффективность тех или иных мероприятий у 100 человек, которые могли бы заболеть СД1, в исследование надо было бы взять 40000 человек, что невозможно с практической точки зрения. Теперь же, за счет предварительного скрининга популяции и выявления лиц с двумя или более ААТ «диабетической специфичности» то же самое исследование может быть проведено на 200 позитивных по двум ААТ пациентах, поскольку в отсутствии лечения 50% из них в течение 5 лет заболеют СД1.

А как насчет инсулиннезависимого диабета 2 типа (СД2), который не является аутоиммунным заболеванием? Обширный скрининг пациентов СД2 позволил обнаружить удивительную вещь. Примерно у 5% пациентов с установленным диагнозом СД2 были выявлены ААТ «диабетической специфичности». Может показаться, что 5% - это небольшое число, но, поскольку, не менее 20 миллионов человек в Соединенных Штатах страдают СД2, постольку, приблизительно у 1 миллиона пациентов СД2 либо неверно установлен диагноз, либо фактически СД1 (т.е., скрытый аутоиммунный диабет взрослых) или комбинация диабета 1 и 2 типа.

Предиктивные антитела при других заболеваниях

Открытие антител-предикторов при СД1 стимулировало интерес к ААТ как предиктивным маркерам и других аутоиммунных заболеваний. По самым скромным оценкам существует от 40 до 80 различных аутоиммунных заболеваний. Некоторые затрагивают лишь один орган, другие поражают множество органов. Среди ведущих причин заболеваемости и смертности в США аутоиммунные заболевания занимают третье место и уступают лишь патологии сердца и раку, поражая от 5 до 8% населения. Медицинские расходы, связанные с аутоиммунными болезнями, составляют миллиарды долларов в год. К наиболее распространенным аутоиммунным болезням относятся ревматоидный артрит, системная красная волчанка, тиреоидит и целиакия. Различные аутоантигены выявлены при каждом из этих заболеваний и показано, что ААТ ко многим из них присутствуют в крови больных на момент установления диагноза. Однако проспективных исследований, для определения, какие из них являются предиктивными, проведено очень мало. К настоящему времени изучено лишь несколько заболеваний, и установлено, что при некоторых из них ААТ за 5-10 лет предшествуют клинической манифестации. Следует подчеркнуть, однако, что число пациентов в этих исследованиях было мало и необходимо подтверждение на больших выборках.

Хотя ААТ рассматривают маркер аутоиммунных заболеваний, иногда ААТ к антигенам нормальных и измененных тканей появляются до клинических проявлений и определенных опухолей. Возможность их использования в качестве предиктивных маркеров раннего выявления опухолей сейчас исследуется в нескольких лабораториях.

Применение предиктивных аутоантител при других ситуациях

В дополнение к своей диагностической ценности в предсказании вероятности развития заболевания, у предиктивных ААТ имеются и другие важные области применения. Например, они дают определенную информацию касательно продолжительности продромального периода, предшествующего развитию клинических симптомов, и четко демонстрируют, что многие аутоиммунные заболевания являются хроническими по своей природе. Такая информация может быть полезной для предупреждения пациента о ранних симптомах, риске, времени и самой возможности развития болезни, хотя бы для настороженности пациентов группы высокого риска, которая помогла бы избегать факторов, способных провоцировать заболевание. Например, целиакия – аутоиммунная болезнь, характеризующаяся кишечной мальабсорбцией. На момент установления диагноза ААТ к тканевой трансглутаминазе обнаруживаются у большинства пациентов. Сегодня мы знаем, что эти ААТ появляются за годы до начала болезни. При развитии целиакии необходимо исключение из диеты компонента пшеницы – глютена, что ведет к ремиссии. Не исключено, что удалении глютена из диеты при первом обнаружении этих ААТ может остановить развитие заболевания. К сожалению, клинические исследования по этому вопросу пока не проводились.

В настоящее время исследуется возможность применений предиктивных ААТ для предсказания скорости прогрессирования отдельно взятой болезни и ее потенциальной тяжести, а также риска развития обусловленных заболеванием осложнений. Например, некоторые ААТ у пациентов с атеросклерозом предсказывают увеличение риска инсульта, тогда как другие ААТ у пациентов с антифосфолипидным синдромом предсказывают высокую вероятность тромбоза и невынашивания беременности. Уже полученные многообещающие данные требуют дальнейших подтверждений.

Аутоантигеном человека

Каким должен быть следующий шаг? Точнее говоря, таких шагов должно быть три. Большинство известных в настоящее время аутоантигенов было идентифицировано случайно. С появлением доступа к огромным базам данных практически по всем генам человека, стал возможным более систематический долговременный подход, задачей которого будет идентификация и характеристика всех главных аутоантигенов при наиболее распространенных аутоиммунных заболеваниях. Мне это направление видится, как

проект «аутоантигеном» человека. Это должен быть масштабный проект, требующий сотрудничества между многими лабораториями. Он должен включать поиск в базах данных всех или большинства известных белков, амплификации последовательностей и экспрессии белков *in vitro*. Затем каждый из белков должен тестироваться с набором сывороток от пациентов с разными аутоиммунными заболеваниями (скрининг на антиген-специфичные ААТ). В итоге, почти наверняка, можно было бы обнаружить множество новых аутоантигенов. После идентификации аутоантигенов предиктивная ценность ААТ, реагирующих с ними, должна быть проверена в проспективных/ретроспективных исследованиях так же, как это делалось при СД1.

Не следует упускать из виду, что основной задачей предсказания является предупреждение болезни. После идентификации аутоантигена и определения высокой предиктивной ценности ААТ к нему становятся возможными исследования профилактической эффективности разных терапевтических вмешательств. Поскольку существует много аутоиммунных болезней со своей специфичной симптоматикой, может потребоваться разработка специфической терапии для каждого. Если уже существует эффективное лечение, тормозящее или останавливающее болезнь, оно может быть апробировано в модифицированной форме для предупреждения заболевания у пациентов отнесенных к высокой группе риска по уровню предиктивных ААТ. Для лиц группы риска развития других аутоиммунных заболеваний, при которых эффективное лечение не разработано, можно было бы использовать общие принципы подавления аутоиммунного ответа при помощи средств, направленных на специфичные подгруппы лимфоцитов или на лимфокины, повреждающие ткани. Эти и другие методы лечения в настоящее время тестируются в том или ином виде на животных и в ряде случаев на людях, но профилактическая эффективность такой терапии пока не изучена.

Кого скринировать? Этические вопросы

Идея предиктивной медицины весьма впечатляет, но даже после расшифровки аутоантигена и определения предиктивных ААТ должен быть решен ряд практических и этических вопросов. Например, таких: хотели бы вы знать о возможности развития у вас аутоиммунного заболевания, лечения которого не имеется или оно недостаточно эффективно? Хотели бы вы участвовать в клиническом испытании терапевтического вмешательства, при условии, что вы можете попасть в те 50%, у которых болезнь не разовьется? Если один из ваших детей болен аутоиммунным заболеванием, захотите ли вы тестировать остальных? Перевесит ли положительный или отрицательный результат теста тревогу от незнания? С точки зрения управления здравоохранением, будут ли анализы рациональны по соотношению стоимость-эффективность? Не откажут ли людям с позитивным результатом анализа в страховке и не повысят ли ее стоимость? Не навесит ли это на человека ярлык, который повлияет на прием на работу или увольнение? Это лишь некоторые из множества этических проблем и вопросов менеджмента, которые должны быть решены в рамках предиктивной медицины.

Заключительные комментарии

Медицина, как мы знаем, развивается по пути от диагностики и лечения болезней к их прогнозированию и предупреждению. Однако нам предстоит еще долгий путь. В случаях аутоиммунных заболеваний, во-первых, мы должны изучить аутоантигеном человека. Во-вторых, мы должны установить, какие из ААТ являются предиктивными. В-третьих, нам придется разобраться со сложными этическими проблемами и вопросами управления здравоохранением. Тем не менее, я полагаю, что предиктивная медицина, особенно в отношении аутоиммунных болезней, приведет к созданию новых подходов к лечению, которое можно будет начать до серьезного поражения органов-мишеней, и это будет иметь огромное значение для всей медицины.

Acknowledgement

This research was supported by the Intramural Research Program of the National Institute of Dental and Craniofacial Research, the National Institutes of Health.

References

- 1) Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. *Autoantibodies as predictors of disease*. J Clin Invest. (2001), **108**(10),1417-22.
- 2) Notkins AL., *New predictors of disease*. Sci Am. (2007), **296**(3),72-9.
- 3) Hirai H, et al. *Selective screening of secretory vesicle-associated proteins for autoantigens in type 1 diabetes: VAMP2 and NPY are new minor autoantigens*. Clin Immunol. (2008), (in press)

СЫВОРОТКИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ СОДЕРЖАТ АУТОАНТИТЕЛА, К АНТИГЕНУ ГРУППЫ КРОВИ H(0) – ДИСАХАРИДУ FUC α 1-2GAL

П. С. Обухова, Е.Ю. Корчагина, Н. В. Бовин.

Институт Биоорганической химии РАН, Москва, Россия. E-mail: polina@carb.ibch.ru.

Естественные аутоантитела – это предрасположенные сывороточные антитела, обладающие реактивностью к антигенам собственного организма и часто не детектируемые в нативной сыворотке крови здоровых доноров. H-дисахарид (H_{di}, Fuc α 1-2Gal) – структурный фрагмент H-аутоантигена, присутствующий на всех эритроцитах независимо от группы крови (ABH), если индивидуум не относится к редкому фенотипу Бомбей. Таким образом, антитела, направленные к H-дисахариду – это аутоантитела. С помощью сорбента H_{di}-sepharose 6FF нами были аффинно выделены антитела, скрытые в исходных нативных сыворотках крови здоровых доноров I(0) и IV(AB) групп. Концентрации выделенных антител в сыворотках составляли 7-10 мкг/мл, причём соотношение IgM / IgG составило ~8. Эти антитела проявили высокую активность исключительно к дисахариду Fuc α 1-2Gal в ИФА. С остальными 12 близкородственными олигосахаридными структурами антитела взаимодействовали очень слабо (чуть выше фонового уровня), или не связывались вовсе. Интересно, что аффинно-очищенные анти-дисахаридные антитела не узнавали трисахариды Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc (H тип 1), Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc (H тип 2) и Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc (H тип 3), в состав которых входит H-дисахарид. Мы объясняем эти результаты конформационными особенностями данных олигосахаридов.

Участие анти-H_{di} антител во врождённом иммунитете не ясно. Возможно, эти антитела, как и анти-A, анти-B антитела, способны узнавать липополисахариды бактерий, гликоконъюгаты паразитов, таких как *Ascaris lumbricoides*.

НАПРАВЛЕННОЕ ИММУННОЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

Wulf Palinski, Tomoya Yamashita, Claudia Eberle, Claudio Napoli

Department of Medicine, University of California San Diego, La Jolla, California 92093-0682, USA. Email: wpa-linski@ucsd.edu

Представления о том, что В- и Т-лимфоциты человека становятся способными к обучению, т.е. к дифференцировке и пролиферации, лишь после завершения их созревания в перинатальном периоде, постепенно сменяется осознанием того, что определенное программирование этих клеток происходит еще *внутриутробно*. Накапливаются доказательства того, что своеобразное «*внутриутробное* программирование» иммунной системы плода происходит под активным влиянием адаптивных иммунных реакций матери. Несмотря на это, основное внимание по привычке продолжают уделять воздействию антигенов на плод и новорожденного и их влиянию на формирование толерантности, а также влиянию материнских антител на идиотипические сети потомства. При этом запечатление особенностей иммунного реагирования связывают с коротким постнатальным периодом.

В ходе работ, проводившимися в последнее десятилетие совсем в других областях (в частности, при изучении раннего онтогенетического «программирования» сердечно-сосудистых заболеваний под воздействием материнских дизметаболических нарушений) было установлено, что в период беременности действуют патогенные факторы, способные активно влиять на многие аспекты клеточной дифференцировки и клеточных функций у плода, в том числе, влиять на его «иммунное программирование», посредством ранее неизвестных механизмов. К примеру, оксидативный стресс *in utero*, определяет повышенный риск развития атеросклероза в последующем. Напротив, иммунизация матери антигенами, обогащенными «oxidation-specific» эпитопами, защищает от подобного атерогенного «программирования» и повышает атеропротективный иммунный ответ у потомства, зависящий от В-лимфоцитов. Подобные наблюдения позволили предположить, что онтогенетическое программирование иммуноцитов плода осуществляется как под влиянием особенностей адаптивного иммунитета матери, так и под действием факторов, присутствующих в среде *in utero*, и влияющих на общий ход онтогенетического развития. Причем их действие не обязательно ограничивается узкими временными рамками. Можно полагать, что изучение соответствующих механизмов может привести к разработке методов направленной модуляции онтогенетического иммунного программирования, направленного на снижение рисков или предотвращение многих болезней более позднего возраста, связанных с состоянием иммунных механизмов. В том числе, сердечно-сосудистых заболеваний, инсулинорезистентности, диабета, инфекционных болезней и онкозаболеваний. Ниже мы кратко рассмотрим полученные данные, свидетельствующие в пользу наших предположений.

Представления об онтогенетическом программировании сердечно-сосудистых болезней долгое время базировались на эпидемиологической связи между низким весом при рождении (нарушении роста плода) и риском развития атеросклероза, диабета или гипертонии в последующем [1, 2]. Попытки выявить при исследовании причины и механизмы этой связи были значительно осложнены тем фактом, что сниженный вес новорожденного является интегральным параметром влияний множества разных факторов, ряд из которых удалось идентифицировать [3] (повышенное содержание у матери глюкокортикоидов [4], гиперхолестеринемия [5]). С иммунологической точки зрения особенно интересна материнская гиперхолестеринемия. Гиперхолестеринемия ассоциирована с активацией перекисного окисления липидов и оксидативным стрессом, стимулирующими атерогенез. Это происходит с помощью ряда механизмов, например, за счет ингибирования ядерных сигнальных путей, чувствительных к окислению, которые регулируют пролиферацию, рост, дифференцировку, секреторную активность и апоптоз Т-клеток и моноцитов, а также путем ингибирования NO-зависимой вазодилатации [6].

Помимо своей роли в атерогенезе, окисленные ЛНП являются высоко иммунными и запускают формирование аутоантител против широкого спектра «oxidation-specific» эпитопов [7], образующихся при реакции продуктов перекисного окисления липидов (альдегидов, кетонов и окисленных фосфолипидов) со свободными аминокетонами аполипопротеинов, белков или фосфолипидов [8]. Количество таких антител может являться показателем развития атеросклеротического процесса. Титр этих антител повышается с ростом числа атеросклеротических бляшек, что часто, но неверно, трактуют, как доказательство патогенетической роли этих антител. Напротив, показано, что иммунизация кроликов и мышей липопротеинами низкой плотности, окисленными или модифицированными некоторыми альдегидами, например, малоновым диальдегидом (ок-ЛНП), подавляет атерогенез [9-15]. При клонировании естественных «oxidation-specific» антител, полученных от неиммунизированных мышей с выраженным атеросклерозом [16], было выявлено, что особая популяция антител класса IgM, обозначенная как «ЕО6» и связывающих эпитопы окисленных медьсодержащих ЛНП и окисленных фосфолипидов, оказалась идентичной классическому идиотипу антифосфорилхолиновых антител Т-15, обеспечивающих защиту от пневмококковых и других бактериальных

инфекций [17]. Тот факт, что продуцируемые В-1 клетками ЕО6/Т15 IgM антитела являются частью врожденной иммунной системы и, как оказалось, уровень их повышается в процессе атерогенеза, указывает на взаимодействие между врожденным и адаптивным ответом на окисленные неоэпитопы.

Принимая во внимание выраженность иммунного ответа на продукты перекисного окисления и их способность регулировать атерогенез у взрослых, оказывается неудивительным, что внутриутробное повышение окислительных процессов, влияет на иммунное программирование, а также то, что окислительно-зависимое программирование *in utero* подвержено влиянию иммунных механизмов.

За прошедшие десять лет мы показали, что материнская гиперхолестеринемия, даже ограниченная периодом беременности, ведет к росту продромальных атеросклеротических отложений (например, жировых полосок) в артериях плода человека [18, 19] и ускоряет атерогенез в период нормохолестеринемического детства [20]. Хотя вклад врожденной генетической предрасположенности к атеросклерозу детей от гиперхолестеринемических матерей не может быть исключен, эксперименты на генетически однородных животных, содержащихся на высокохолестериневой диете, подтвердили причинную роль материнской гиперхолестеринемии в атерогенезе [21-23]. Стойкие изменения экспрессии генов в артериях потомства матерей с гиперхолестеринемией может быть одним из механизмов усиленного постнатального атерогенеза [24]. У крыс, устойчивых к индуцируемому диетой атерогенезу, материнская гиперхолестеринемия вызывает эндотелиальную дисфункцию и нарушение релаксации стенок сосудов у их потомства [25, 26]. Важным следствием гипотезы программирования развития является то, что кратковременные вмешательства, снижающие внутриутробное воздействие патогенных факторов, должны, в результате, удлинить жизнь потомства. Действительно, лечение матерей препаратами, снижающими уровень холестерина (холестирамином) и антиоксидантами (витамином Е) подавляет как фетальный, так и постнатальный атерогенез [21; 22; 27]. По аналогии, лечение беременных мышей, страдающих гиперхолестеринемией, статинами (беременным женщинам они противопоказаны) улучшало вазореактивность и уменьшало предрасположенность к гипертензии [28]. Хотя эти эксперименты подтвердили патогенетическую роль окислительного стресса в программировании развития, показали возможности превентивного лечения и акцентировали внимание на необходимости скрининга новорожденных группы высокого риска [29], проблемы безопасности вмешательств во время беременности обусловили необходимость поисков альтернативных решений. Одним из таких решений может быть индукция у матери перед беременностью синтеза антител специфичных для окисленных продуктов и способных снизить воздействие окислительного стресса на плод путем образования и быстрого удаления из кровотока иммунных комплексов из антител и ЛНП, несущих окисленные эпитопы [12].

Модельные эксперименты на кроликах и мышах подтвердили угнетение атерогенеза у потомства самок, иммунизированных препаратами Ох-ЛНП, содержащих широкий спектр окисленных эпитопов [27]. Однако вдобавок к защите от внутриутробного программирования материнской гиперхолестеринемией и окислительным стрессом, эти исследования выявили, что постнатальный В- и Т-зависимый ответ потомства также запрограммирован. У потомства иммунизированных матерей, получавшего умеренно атерогенную диету, после прекращения грудного вскармливания было обнаружено увеличение IgM антител к Ох-ЛНП и циркулирующих IgM-ЛНП иммунных комплексов. Это не может быть объяснено трансплацентарным переносом материнских IgG антител – известным механизмом передачи новорожденным и детям временной пассивной иммунной защиты. Сходным образом потомки иммунизированных ок-ЛНП матерей, никогда не подвергавшиеся пищевой гиперхолестеринемии, реагировали на однократное введение смеси Ох-ЛНП и КЛН мощным Ох-ЛНП-специфичным ответом, увеличением числа В-клеток селезенки, секретирующих Ох-ЛНП-специфичный IgM, большим количеством циркулирующих IgM-ЛНП иммунных комплексов. Это было характерно, как для 6-

недельного, так и для взрослого потомства, что вновь исключает эффект материнского IgG. Напротив, иммунизация самок Т-зависимым антигеном KLH, отсутствующим в естественных условиях у матерей и их потомства, не влияла на постнатальный иммунный ответ. Эти данные свидетельствуют, что материнский адаптивный иммунитет к определенным антигенам влияет на постнатальный В-клеточный ответ у потомства и что модуляция внутриутробного иммунного программирования может защитить от иммуноопосредованных заболеваний в дальнейшем [27].

Наши результаты не являются первым свидетельством того, что иммунное программирование может начинаться во время развития плода. Давно известно, что материнские IgG антитела обеспечивают транзитную иммунную защиту во время периода новорожденности и раннего детства, в течение которых иммунная система является относительно некомпетентной. IgM антитела не проникают через плаценту. IgA антитела из материнского молока также обладают защитными свойствами за счет того, что они покрывают поверхность стенки кишечника, но в кровоток при этом не проникают. Установлена возможность повышения резистентности потомства к разным инфекциям за счет иммунизации матери бактериальными и вирусными антигенами [30, 31]. Кроме пассивной защиты материнскими антителами индивидуального потомства, материнский адаптивный иммунитет обеспечивает значительные преимущества для всей популяции за счет «стадного иммунитета», в особенности, когда адаптивный ответ у детей подстегивается спонтанным воздействием антигена или иммунизацией в тот период, пока они еще защищаются материнскими антителами [30]. С другой стороны, перенос антител может оказывать и отрицательные эффекты, например, увеличивая риск аутоиммунных заболеваний [32]. Интересно, что материнские антитела влияют и на активный иммунный ответ у потомства. Некоторые из этих эффектов являются кратковременными и не вполне понятны. Возможно, для долговременной постнатальной иммунизации требуется большее количество или повторные введения иммуногенов. Предполагается, что другие эффекты, такие как вторичный ответ на иммунизацию при отнятии от груди, являются следствием примирования иммунных клеток [33]. Это может обуславливаться присутствием соответствующих антигенов в кровотоке (поступавших во время внутриутробного периода и персистировавших в лимфоидной ткани плода и новорожденного [30]). Однако данные экспериментов с введением антител, очищенных от антигенов, в раннем неонатальном периоде, заставляют сомневаться в такой интерпретации. Более того, запечатление (импринтинг) вариантов постнатального ответа не ограничивается специфическими антителами, но может влиять, например, на «широту» В-клеточного репертуара [31, 34]. Это объясняется с позиций «сетевой» модели иммунной системы Ерне, предполагающей интенсивные идиотип-антиидиотипические взаимодействия [35]. Данная модель в последнее время теряет популярность из-за недостаточной практической применимости [36]. Основываясь на долговременных эффектах материнских антител, Лемке и Ланге предположили, что иммунный импринтинг, в сочетании с внешним сигналом, полученным в течение короткого временного промежутка, ведет к долговременному программированию особенностей иммунного ответа потомства, что напоминает поведенческий импринтинг, описанный Конрадом Лоренцом [31]. Эта привлекательная гипотеза, основанная главным образом, на материнских антителах и сетевой модели, к сожалению не позволяет предсказать, будет ли материнский импринтинг по отношению к конкретному антигену иметь положительное или отрицательное значение для потомства.

Одним из лучших доказательств материнского иммунного программирования являются данные о воздействии на мать аллергенов, активирующих Т-клетки и индуцирующих IgE-ответ. Аллергенспецифичные Т-клетки фетального происхождения имеются у большинства новорожденных [37, 38], а пренатальное воздействие определенного аллергена предопределяет более активный ответ потомства на аллергены, отличные от тех, что воздействовали во время беременности [38-42]. Эти данные трудно объяснить

влиянием материнских антител (и еще сложнее - постнатальными влияниями). Скорее они указывают на важность контакта плода с антигеном.

Несмотря на то, что ведущей является точка зрения о том, что при контакте плода с антигеном обычно индуцируется толерантность, а не адаптивный иммунитет, недавние результаты указывают на возможность преодоления неонатальной толерантности, например, при внешних иммунологических манипуляциях [43]. Многие иммунологи, однако, ставят под сомнение то, что проведенные модельные эксперименты доказывают наличие Т-клеточного программирования, аргументируя это тем, что «аллергическое программирование» в действительности может отражать естественный сдвиг в сторону Th2-ответа, происходящий в период беременности и, как предполагается, защищающий плод от иммунной агрессии со стороны организма матери. Кроме того, указывают на трудность оценки численности антиген-специфичных клеток у новорожденных. Наконец, сама ситуация усиления аллергического IgE ответа у новорожденных отнюдь не стимулировали исследований феномена иммунного программирования.

Наши данные об усилении протективного иммунного ответа, включавшего специфичные IgM, и IgG антитела, В-клетки и, возможно, Т-клетки у потомства матерей, иммунизированных Ох-LDL (сопровождавшегося торможением развития атеросклероза), свидетельствуют о возможности позитивной роли передачи материнской иммунной памяти потомству. В тоже время, иммунное программирование не является универсальным следствием материнского адаптивного иммунитета, а взрослое потомство обычно не имеет иммунной защиты от антигенов, с которыми встречались их матери. Естественно возникает вопрос, не является ли Ох-LDL атипичным антигеном. Ох-LDL аккумулируется в стенке артерии не только при развитии атеросклероза, но и у индивидов с нормальным содержанием холестерина в крови (хотя и в меньших количествах, чем у гиперхолестеролевых). Весьма вероятно, что специфические В- и/или Т-клетки, предварительно запрограммированные *in utero*, стимулируются антигеном спонтанно после прекращения грудного вскармливания и достаточно хотя бы одного ятрогенного стимулирования для проявления эффектов иммунного программирования и другими антигенами, с которыми индивид обычно не встречается после рождения. Неспособность усилить специфичный иммунный ответ у потомства на КЛН после иммунизации матери этим антигеном может указывать на то, что выбор Ох-LDL был счастливой случайностью. Тем не менее, даже если иммунное программирование *in utero* уникально для Ох-LDL, вероятно, что оно является иллюстрацией широкого спектра возможностей, не ограничивающихся одним атеросклерозом. Хотя бы потому, что окислительный стресс связан со многими биологическими процессами, например, старением, а также влиянием окислительных процессов на функции плаценты и программировании многих факторов, определяющих восприимчивость к разным болезням в последующей жизни [3, 44].

Мы полагаем также, что изучение иммунного программирования не должно ограничиваться факторами классической иммунологии (антигенами и антителами), но должно включать такие общие явления, как окислительный стресс, и не ограничиваться лишь перинатальным временным отрезком.

Атеросклероз является относительно недавним (по эволюционным меркам) «приобретением», практически не испытывающего эволюционного давления, т.к. его клиническая манифестация обычно происходит после завершения репродуктивного периода. Поэтому можно предположить, что внутриутробное иммунное программирование не ограничивается предупреждением атеросклероза и может использоваться для защиты от бактериальных и вирусных инфекций. Недавние наблюдения Rastogi и др. подтверждает это [38]. После иммунизации женщин против вируса гриппа А авторы наблюдали значительное увеличение уровней специфичных IgM в пуповинной крови, не коррелировавшее с уровнем этих антител у матери. Используя тетрамеры МНС, авторам удалось также установить повышение численности антигенспецифичных Т-клеток у новорожденных. Понятно, что по этическим соображениям невозможно протестировать защитные

эффекты иммунного программирования на людях. Кроме того, Rastogi применял иммунизацию во время, а не перед беременностью. Однако полученные результаты являются шагом вперед. Они продемонстрировали возможность иммунного программирования плода с помощью вирусных антигенов и без применения постнатальной иммуностимуляции, а с помощью технологии FACS авторам удалось показать, что внутриутробное иммунное программирование сопровождается изменениями численности Т-клеток. Количественные изменения численности В-клеток и, в особенности, В1-клеток менее вероятны и отсутствие этих изменений не противоречит предлагаемой гипотезе.

Состояния, предрасполагающие к диабету также являются возможной мишенью материнской иммуномодуляции. В дополнение к эпидемиологическим доказательствам связи между диабетом матери и заболеванием ребенка, экспериментально показано, что материнская гиперхолестеринемия (у крыс, находящаяся на высокожирной диете) провоцирует нарушения обмена глюкозы у потомства [39]. Проводимые в нашей лаборатории исследования, действительно свидетельствуют о протективном эффекте в отношении обмена глюкозы и развития инсулинорезистентности у потомства, достигаемом с помощью иммунизации самок животных определенными антигенами. С учетом того, что инсулинорезистентность является предтечей сахарного диабета 2 типа, а диабет существенно увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний у человека, соответствующее модулирование иммунного программирования может не только подавлять развитие диабета, но и, косвенным образом, снижать уровень сердечно-сосудистой заболеваемости.

Понимание механизмов иммунного программирования, происходящего в раннем онтогенезе, потребует значительных усилий. Тем не менее, сам факт осознания того, что иммунное программирование является лишь частным случаем программируемого развития, и того, что данный феномен зависит не только от состояния иммунной системы матери, но и от особенностей ее обменных процессов в период гестации, открывает новые пути к модулированию иммунной защиты и снижения заболеваемости потомства.

СИНДРОМ ПОСТИНФЕКЦИОННОГО ВТОРИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА (СПИВИД) И ПОСТИНФЕКЦИОННЫЙ АУТОИММУННЫЙ СИНДРОМ (ПИФАС) В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ: ЭТИОПАТОГЕНЕЗ И СТРАТЕГИЯ ИММУНОГЕНОДИАГНОСТИКИ

М.А. Пальцев, С.В. Сучков

ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Вторичные клиничко-иммунологические синдромы, провоцируемые первичным инфекционным заболеванием, зависят от особенностей течения болезни (как правило, хронической) и неадекватно применяемой антимикробной терапии. К таким синдромам относятся:

СПИВИД - синдром постинфекционного вторичного иммунодефицита, обусловленный вторичной недостаточностью иммунной системы (нарушением иммунного надзора и/или иммунного ответа); синдром типичен для хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, торпидных к традиционной терапии. Основным клиническим проявлением СПИВИД является истощение суммарных ресурсов антимикробной защиты, обусловленное дефектами наследственного звена иммунитета с развитием вторичных нарушений в составе адаптивного звена, проявляющееся хронически рецидивирующими инфекционными заболеваниями бактериальной и смешанной природы. Подавление в итоге активности эффекторных звеньев адаптивного иммунитета заметно ослабляет иммунный ответ на патоген-инфект, что приводит либо к длительной персистенции патогена, либо к суперинфицированию условно-патогенными микроорганизмами, способными поддерживать вялотекущий процесс. В структуре СПИВИД различают (1) *компенсированную* форму, сопровождающуюся повышенной восприимчивостью к инфекциям; (2) *субкомпенсированную* форму с выраженной хронизацией инфекционного

заболевания и (3) *декомпенсированную* форму, проявляющуюся генерализованными и часто рецидивирующими инфекциями, индуцированными, в том числе, условно-патогенной флорой. В целом СПИВИД представляет собой сочетанный *клинико-иммунологический* синдром, обусловленный совокупностью патогенетически взаимосвязанных признаков и спектром клинико-иммунологических проявлений.

ПИФАС - постинфекционный аутоиммунный синдром, провоцируемый антигенами (АГ) патогена, мимикрирующими под АГ хозяина, и характеризующийся картиной хронического аутоиммунного воспаления. В его основе лежит активация аутореактивных ЦТЛ, перекрестно реагирующих с эпитопами патогена-инфекта и АГ пациента. При этом эффекты мимикрии ведут к активации на стадии аутоиммунного заболевания дополнительных (антитканевых или антиорганных) клонов аутореактивных ЦТЛ, ранее (в инфекционной фазе) уже проактивированных первичным патогеном. Развитие ПИФАС связано также с активацией аутореактивных клонов Т- и В-лимфоцитов под влияние микробных *супер*АГ и высвобождения *криптических* (внутримолекулярных) детерминант аутоАГ вследствие повреждения тканей, вызванного персистирующей инфекцией. Эти механизмы, дополняющие молекулярную мимикрию, не являются взаимоисключающими и могут играть на конкретных стадиях заболевания существенную роль. При ПИФАС аутоиммунной агрессии могут подвергаться любые органы или ткани, давая развитие как органоспецифическим, так и системным формам аутоиммунной патологии, причем риски возрастают с ростом частоты инфекционных заболеваний и ассортимента патогенов (*микст-инфекций*). Важными факторами инициации ПИФАС, являются: (а) АГ свойства патогена-инфекта и (б) тропизм патогена к определенным клеткам, органам и тканям, на которые и оказывается цитопатический эффект. К числу ярких проявлений ПИФАС относятся: (а) *в офтальмологии* - герпетический кератит; (б) *в кардиологии и эндокринологии* - аутоиммунный миокардит (АИМ), тиреоидит (АИТ) и сахарный диабет 1-го типа; (в) *в неврологии* - аутоиммунный энцефаломиелит (АЭМ) и рассеянный склероз (РС); (г) *в ревматологии* - ревматоидный артрит (РА); (д) *в гастроэнтерологии* - аутоиммунный гепатит (АИГе) и аутоиммунный гастрит (АИГа); (е) *в уронефрологии* - (стрептококковый) аутоиммунный гломерулонефрит (АГН) и хронический пиелонефрит (ХПНФ).

СПИВИДАС (синдром постинфекционного вторичного иммунодефицита в сочетании с постинфекционным аутоиммунным синдромом) включает признаки аутоиммунной агрессии и иммунологической недостаточности; синдром осложняет течение заболевания и способствует его хронизации. Данный синдром, отличающийся паритетным вкладом сочетанных аномалий в составе обеих ветвей иммунитета, клинически характеризуется картиной смешанной иммунопатологии – аутоиммунного синдрома в сочетании с иммунодефицитом и совокупным снижением противоинфекционной защиты. В иммунном статусе больных отмечаются сочетанные нарушения в составе эффекторных и регуляторных звеньев адаптивной ветви иммунитета, сопровождающиеся формированием аутоиммунного синдрома.

В соответствии с этими задачами мы рекомендуем:

■ *диагностическую идеологию*, основанную на сочетании (1) патогенетически ориентированной диагностики формы клинико-иммунологического синдрома с использованием иммунологических методов и (2) этиотропной диагностики основного заболевания с применением методов иммуногенодиагностики;

■ *общие алгоритмы лечения*, включающие в себя

на фоне СПИВИД - проведение традиционной (комбинированной иммуностимулирующей и противовирусной) терапии в фазе активной инфекции;

на фоне ПИФАС - осуществление лечебных эффектов иммуносупрессии, иммунорекоррекции и иммунореабилитации по мере прогрессирования ПИФАС;

на фоне СПИВИДАС - разработка и внедрение в практику усовершенствованных протоколов терапии с использованием целеуказанной (выборочной) иммунофармако-

коррекции, предусматривающей: (а) восстановление эффекторных функций наследственной и адаптивной ветвей иммунитета (т.е., минимизацию масштабов иммунодефицита); (б) ликвидацию диспропорций в составе регуляторных и эффекторных звеньев, преимущественно, адаптивного звена иммунитета и, соответственно, подавление механизмов аутоагрессии; (в) реабилитацию функций иммунного надзора со стороны иммунорегуляторных инструментов адаптивной ветви иммунитета.

Мы полагаем, что успехи клинической иммунологии станут той основой, которая позволит интенсифицировать внедрение в широкую клиническую практику современных протоколов иммуногенодиагностики инфекционных заболеваний, сопровождаемых формированием клинико-иммунологического синдрома, и современных программ лечебно-реабилитационных мероприятий с использованием средств и методов иммуногенотерапии.

«ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ» АНТИТЕЛ СКВОЗЬ ПРИЗМУ КЛИНИЦИСТА

М.А. Пальцев, А.Н. Хитров, А.Г. Габиров, С.В. Сучков

ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Росси; МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

К антителам (АТ), демонстрирующим добавочную функциональную активность, можно отнести две категории АТ – каталитические АТ (или *абзимы*) и *интратела*, каждая из которых по-своему оригинальна и полезна при развитии клинической медицины. Цель данного обзора заключается в сравнительной оценке значимости *функциональности* АТ для широкой практики врача-клинициста.

Каталитические АТ

Прогресс, достигнутый при конструировании искусственных абзимов, стимулировал рождение медицинской абзимологии. Особую практическую ценность приобрели АТ с ДНК-гидролизующей активностью (ДНК-абзимы) и АТ с протеолитической активностью (*АТ-протеазы*). Такие АТ стали незаменимыми в практике врача-клинициста на этапах верификации диагноза, мониторинга на фоне лечения с прогнозированием рисков развития осложнений и исходов заболевания в целом. А некоторые из таких абзимов удостоились чести стать интегральной составляющей новейших лекарственных препаратов, применяемых в лечебных схемах с высокой клинической эффективностью.

ДНК-абзимы, ориентированные на АГ широкой специфичности (например, ДНК или РНК), встречаются наиболее часто, в высоких титрах и с максимальной ДНК-гидролизующей активностью у больных с системной аутоиммунной патологией (СКВ, РА), существенно ограничивая свое присутствие при диссеминированных (РС) и органоспецифических (АИТ и АИМ) аутоиммунных заболеваниях.

АТ-протеазы, предназначенные для атаки высокоспецифичных АГ субстратов (например, органо- или тканеспецифических АГ), наоборот, доминируют у пациентов с локализованными признаками аутоагрессии (например, миокарда или щитовидной железы), т.е., при органоспецифических и диссеминированных аутоиммунных заболеваниях. АутоАТ, выявляемые при АИТ и ДТЗ, способны расщеплять тироглобулин (ТГ) и тиродную пероксидазу (ТПО), проявляя каталитическую (протеолитическую) активность, сходную с таковой для классических протеаз. При другой форме аутоиммунной патологии - бронхиальной астме также образуются аутоАТ, специфически связывающие и эффективно его гидролизующие вазоактивный кишечный нейропептид VIP. Сходная ситуация характерна для АИМ, когда присутствие у пациентов анти-КМ АТ-протеаз с высокой в отношении специфической «мишени» активностью коррелирует с тяжестью клинической картины и степенью инвалидизации пациента. При этом подъем активности АТ-протеаз обуславливает деструкцию миокарда, сопровождаются обострениями заболевания и служат одной из причин формирования очагово-диффузных поражений миокарда с развитием стойкой сердечной недостаточности и, в итоге, инвалидизации пациента. При РС «мишенью» для атаки АТ-протеазами является миелин, а точнее, его

главный АГ компонент – ОБМ, который способен подвергаться протеолизу с участием анти-ОБМ АТ-протеаз. При этом ключевой особенностью АТ-опосредованного протеолиза является тесная взаимосвязь активности АТ-протеаз с масштабом демиелинизации ткани и инвалидизацией больных. Эффективность АТ-опосредованного протеолиза и, соответственно, интенсивность демиелинизации определяются итогами взаимодействия АТ-протеаз с конкретными участками миелинового волокна (АГ детерминантами ОБМ), основу которых составляют энцефалитогенные пептиды, что иллюстрирует характерный для РС комплекс симптомов.

В реализации механизмов взаимодействия абзимов (в частности, ДНК-абзимов) со своими молекулами и, особенно, с клетками-мишеням задействован *Fc*-фрагмент АТ. В традиционных (*Fc*-зависимых) формах цитотоксичности *Fab*-фрагмент участия не принимает, что принципиально отличает эти формы от механизмов, опосредуемых ДНК-абзимами. Последние же функционируют независимо от *Fc*-фрагмента и обусловлены либо прямым участием *Fab*-фрагмента в каталитической атаке на геном клетки-мишени, либо индукцией апоптоза по причине высокого сродства ДНК-абзимов к поверхностным рецепторам клеток-мишеней. Перекрестно-реагирующие с такими клетками ДНК-абзимы могут вызывать деградацию клеток и провоцировать развитие синдромальных форм патологии: (1) люпус-нефрита и/или повреждения нервной ткани ЦНС в случае перекрестной реактивности с эндотелием клубочков и/или глутаматными рецепторами при СКВ или РС, соответственно; (2) суставного синдрома в случае перекрестной реактивности с аутоАГ синовиальной оболочки суставов при РА; (3) экстракардиальной симптоматики и прогрессирования МКС в случае перекрестной реактивности с аутоАГ миокарда при АИМ. Таким образом, в реализации цитотоксического потенциала ДНК-абзимов участвуют, как минимум, два альтернативных механизма - рецептор-опосредуемая клеточная смерть путем апоптоза и прямой цитотоксический эффект ДНК-абзимов за счет каталитического гидролиза генетического аппарата клетки-мишени.

ДНК-абзимы и АТ-протеазы способны выступать в роли метаболического регулятора не только индивидуально, но и в тандеме, что имеет клиническое значение. Не исключено, что в природе *функциональности* абзимов запрограммирован некий дополнительный энзиматический потенциал, а разработка (на основе абзимов) инженерных конструкций с заданными эффекторными свойствами заложит фундамент для создания принципиально новых лечебно-диагностических препаратов.

Так, АТ-протеазы могли бы стать перспективными молекулярными инструментами в лечении инфекционных заболеваний, участвуя в формировании пассивного иммунитета за счет реализации в организме пациента собственного функционального ресурса. Другие абзимы, наделенные способностью активировать лекарственный предшественник (*prodrug*) в момент его доставки к ткани- и органу-мишени, уже используются при проведении противоопухолевой химиотерапии и для лечения ВИЧ-инфицированных больных.

Каталитические АТ с терапевтическими функциями, планируемые для использования в современных схемах лечения и реабилитации, должны специфически узнавать и избирательно связывать клетку или молекулу-мишень, осуществляя адекватные функции катализа. Особой ценностью в этой связи обладают абзимы, способные непосредственно внедряться в процессы физиологической реконструкции тканей со сложной клеточной архитектурой, к числу которых относятся, в частности, нейроглия. В последнем случае абзимы могут быть использованы в качестве индукторов ремиелинизации при восстановлении утраченных функций глии, как это происходит, например, при РС.

РС, как известно, характеризуется нарушением компактизации миелина и поэтапной деградацией миелиновой оболочки, что обуславливает возникновение выраженного неврологического дефицита. В качестве инструментов, обуславливающих распад миелина, выступают и АТ-протеазы. Целенаправленно меняя специфичность АТ-зависимого

протеолиза, можно сокращать плотность миелин-ассоциированных «мишеней», созревших для протеолитической атаки, и, тем самым, минимизировать восприимчивость миелина к деградации. В этой связи одним из наиболее перспективных инструментов в лечении РС становятся АТ-протеазы и их модуляторы, тормозящих демиелинизацию и одновременно запускающих процессы ремиелинизации.

Клиническая ценность абзимов заложена в их уникальной особенности, отличающей абзимы от других биокатализаторов – абзимы могут быть выработаны для катализа почти всех реакций, происходящих в живых системах, а также для создания принципиально новых биокатализаторов, не имеющих аналогов. Поэтому возможность направить живую клетку по пути синтеза каталитических АТ (например, в рамках принудительного стимулирования В-лимфоцитов к синтезу АТ-протеаз с заданным дизайном) может найти самое широкое применение в клинической практике для лечения и профилактики аутоиммунных и инфекционных заболеваний.

Интратела

В отличие от абзимов, имеющих своих представителей и среди природных, и среди искусственных АТ, интратела (*intrabodies*) относятся к категории рекомбинантных биомолекул, разработанных для решения практических (в том числе, фармакотерапевтических) задач современной медицины. Главной сферой применения интрател становится адресная доставка лекарственных средств к органам- или тканям-мишеням, содержащих в своей структуре клинически значимые АГ комплексы.

Особые перспективы перед интрателами открываются в связи с их способностью преодолевать отсутствие природной гомологии между вирусными (или онкогенными) АГ с одной стороны и аутоАГ клеток-хозяина (пациента), с другой (в этом случае становятся незаменимыми среди врачей-инфекционистов и врачей-соматиков) - при фармакотерапии заболеваний вирусной природы и, в особенности, целого ряда после инфекционных осложнений, к которым, в частности, относятся аутоиммунные и дегенеративные процессы.

И, наконец, интратела-“самоубийцы”, способные перенаправлять транспортировку патогенетически значимых биомолекул, отдавая эти молекулы на растерзание внутриклеточным протеолитическим инструментам (в том числе, АТ-протеазам), что обеспечивает в итоге селективное подавление скомпрометировавших метаболических каскадов на уровне как отдельно взятой клетки, так и целых тканей или органотканевых систем, предоставляя врачу-клиницисту возможность управления метаболическими процессами с помощью адресной иммунофармакотерапии.

Не исключено, что уже в ближайшем будущем будут предприняты шаги по разработке принципиально новой критериальной системы клинических показаний при назначении пациенту современной терапии на основе абзимов или интрател.

ПАРАДОКСАЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЯ И НОВЫЕ ПУТИ К ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

А.Б. Полетаев

*МИЦ «Иммункулус», Москва, НИИ системной наномедицины и биотехнологии, Москва, Россия
(poletaev_a_b@rambler.ru)*

Существо вопроса

Нередко в обиходе и в прессе приходится слышать или читать высказывания о том, что медицину надо поставить с головы на ноги и платить зарплату врачу не за лечение больного, а за сохранение здоровья здоровому. Споры нет - было бы замечательно, если бы врач обладал даром предвидения и мог выносить вердикты о том, что пациенту N лет через пять грозит инфаркт миокарда, а у пациента M года через три может развиться рак печени – адресные профилактические мероприятия почти наверняка позволили бы отвести угрозу болезни. Увы, врачи пока еще не научились заглядывать в будущее. И пока не будут внедрены в практику технологии индивидуального прогноза

рисков изменений в состоянии здоровья – разговоры о профилактической медицине останутся разговорами. Статистика, имеющая дело не с отдельными людьми, а с популяционными выборками едва ли может стать фундаментом для разработки стратегии профилактической медицины. Ее данные позволяют обозначить факторы риска (подобных факторов - тысячи), но не имеют отношения к прогнозу изменений здоровья конкретного индивида. Например, согласно среднестатистическим данным, курение, употребление спиртных напитков, неправильное питание и т.п. оказывают очевидное негативное влияние на состояние здоровья. В тоже время, У.Черчилль дожил до 90, не выпуская сигары изо рта, а многие кавказские долгожители отнюдь не отказывали себе в ежедневном стакане вина.

Проект «Геном Человека» ожидания и реальность

Исследовательский проект «Геном человека» был самым масштабным и дорогостоящим медико-биологическим проектом в истории. Его итогом стало картирование генома человека. Безусловно – это важнейшее достижение молекулярной биологии. Однако формальная расшифровка структуры генома мало что дала повседневной медицинской практике. Для пояснения ситуации представим себе некоего лингвиста, который знаком с буквами русского алфавита, но не знает русского языка. Допустим, что он ставит перед собой задачу полного побуквенного картирования, к примеру, романа “Война и мир”. По прошествии времени, с помощью комбинаторного компьютерного анализа он получит данные о количестве, частоте встречаемости и сочетаниях букв во фразах, главах и произведении в целом. Первичная последовательность романа будет им полностью расшифрована. Однако реализация такого проекта едва ли позволит понять смысл и содержание романа Л.Н.Толстого. Эта метафорическая ситуация очень близка к ситуации с проектом «Геном человека» - мы знаем алфавит генома, но не владем его языком.

Не следует забывать и тот ключевой момент, что индивидуальные генетические программы определяют лишь степень риска развития болезни, но не болезнь как таковую. Исследование генотипа принципиально не позволяет ответить на вопрос о том, станет ли у данного человека та или иная болезнь реальностью, или же до конца жизни останется лишь потенциальной, но не реализованной угрозой (чем-то вроде Дамоклова меча). Известно, что реализация угрозы развития сахарного диабета, рассеянного склероза и множества других болезней зависит не столько от особенностей генома, сколько от множества дополнительных факторов среды, позволяющих или не позволяющих фенотипической реализации «программы болезни». Можно ли предложить научный проект, способный эффективно дополнить проект «Геном человека» в практическом отношении? Есть ли сегодня предпосылки для разработки подходов, с помощью которых мы получим возможность выявлять не столько «риски болезней», сколько реально начинающиеся в организме патологические изменения, почти всегда ведущие к болезни в отсутствие превентивных мер?

Парадоксальная иммунология

Почти до конца прошлого века аутореактивные лимфоциты рассматривались исключительно как патологические (концепция «запрещенных клонов»). Однако сегодня известно, что в ходе онтогенетической селекции, сочетающей негативный и позитивный отбор, «право на жизнь» получают лишь те лимфоциты, которые с определенной аффинностью взаимодействуют с собственными антигенами. Апоптозу подвергаются не только клоны, имеющие слишком высокоаффинные рецепторы, но и те, эффективность связывания которых с собственными белками оказывается недостаточной. Таким образом, любые Т- и В-лимфоциты, прошедшие селекцию, по определению являются аутореактивными, а антитела (АТ), которые ими производятся, являются аутоантителами (а-АТ). Производит ли иммунная система какие-либо АТ, которые нельзя было бы отнести к а-АТ? Ответ на этот вопрос далеко не очевиден и, возможно, имеет скорее семантический, нежели функциональный смысл.

То, что процессированные фрагменты вирусов и других микроорганизмов иммунологически сходны с эпитопами белков собственных клеток оказывается «на руку» организму-хозяину – у него не возникает нужды «тратиться» на продукцию *de novo* специальных АТ к ксенобиотикам и позволяет обходиться имеющимися естественными а-АТ (природа не любит платить дважды). Однако в первую очередь а-АТ предназначаются для обеспечения гомеостаза собственного организма – они участвуют в клиренсе от продуктов катаболизма, в модуляции активности многих ферментов, выполняют транспортные функции, и т.д. (Полетаев, 2007).

Характерно, что уровень активности каждого клона лимфоцитов, а значит и уровень синтеза тех или иных а-АТ, регулируется по принципу обратных связей уровнем продукции/презентации эпитопов тех или иных аутоантигенов, в основном, белков, экспрессируемых разными типами клеток нашего тела (Ковалев, Полевая, 1985). Если же принять во внимание, что продукция разных белков клетками печени, почек, сердца, и др. органов в норме имеют относительно небольшие индивидуальные различия, понятно, что синтез, секреция и сывороточное содержание разных а-АТ у разных здоровых лиц может варьировать в лишь небольших пределах. Это заключение подтверждается и экспериментальными наблюдениями (Lacroix-Desmazes S. et al., 1987).

Концепция Иммунокулуса

В соответствии с основной идеей концепции Иммунокулуса, иммунная система осуществляет постоянный скрининг молекулярного (антигенного) состава тела и производит его сравнение с исходным (идеальным) образом-матрицей. При выявлении расхождений автоматически запускаются иммунные и экстраиммунные механизмы коррекции. Иными словами иммунная система выполняет функции не столько «жандарма», стоящего на страже организма от болезнетворных микробов, сколько является своего рода сервомеханизмом (автопилотом), поддерживающим общесистемный метаболический гомеостаз. Борьба же с микробами ведется лишь в том случае и постольку, поскольку они вносят нарушения в гомеостаз организма.

В ходе скрининга состава тела иммунная система пользуется «внутренним образом» организма, отражающим особенности его молекулярного состава. Материальной основой, обеспечивающей создание и сохранение образа-иммунокулуса или матрицы, отражающей антигенно-метаболическое состояние индивидуального организма, является общеорганизменная система естественных а-АТ. Известно, что а-АТ, направленные к разным антигенам собственного организма, синтезируются на протяжении всей индивидуальной жизни и способны взаимодействовать с любыми или большинством ауто-АГ. Сывороточное содержание естественных а-АТ разных специфичностей может различаться в несколько раз (иногда – в десятки раз), однако содержание а-АТ одной и той же специфичности у разных здоровых лиц более или менее близко, а небольшие различия, мало зависящие от пола и возраста, отражают иммуно-метаболическую индивидуальность (Полетаев, 2007). В тоже время развитие самых разных заболеваний базируется на стойких нарушениях синтеза и/или распада тех или иных молекулярных компонентов в определенных популяциях клеток нашего тела, а также сопровождается активацией апоптоза клеток того или иного органа. Понятно, что эти нарушения (начинающиеся задолго до клинической манифестации болезни), неизбежно находят свое отражение во вторичных изменениях продукции определенных а-АТ, специфичных для каждой формы патологии. Такие изменения можно рассматривать как универсальный маркерный признак, сопровождающий развитие любых хронических заболеваний (не только аутоиммунных!).

Вторичное повышение продукции а-АТ, индуцированные формирующейся органной патологией, носит в основном, адаптивно-компенсаторный характер. Эти изменения в наборах а-АТ (т.е. деформации исходного образа-Иммунокулуса) отражают первичные нарушения в определенных группах клеток того или иного органа и выявляются на этапах, предшествующих клиническим проявлениям болезни. Такие изменения (ин-

дикаторы организменных неполадок) служат сигналами для запуска механизмов репарации-коррекции¹⁾ (Полетаев, 2007).

Итак, формирующиеся или имеющиеся заболевания печени сопровождаются избирательным подъемом сывороточного содержания специфических «гепатотропных» ауто-АТ, заболевания сердца – подъемом «кардиотропных» ауто-АТ, почек – «нефротропных» ауто-АТ и т.д. Основным поставщиком аутоантигенов, поступающих в кровоток и стимулирующих дополнительную продукцию ауто-АТ, являются отмирающие клетки, «отслужившие» свой срок. В нормальных условиях (у здоровых людей) интенсивность отмирания (апоптоз) и замещения (репарация) дифференцированных клеток любого органа имеют очень небольшие индивидуальные различия. Однако развитие любого патологического процесса практически обязательно сопровождается локальными изменениями интенсивности апоптоза/регенерации. Это ведет к изменениям поступления в кровоток соответствующих органоспецифических аутоантигенов, что индуцирует вторичную аутоиммунную реакцию (активацию продукции ауто-АТ соответствующей специфичности по принципу обратных связей). Такая реакция направлена, в частности, на оптимизацию клиренса органа в измененных условиях (подчеркнем, многие ауто-АТ непосредственно участвуют в клиренсе организма от продуктов катаболизма). Отсюда понятно, что детекция количественных изменений продукции специфических ауто-АТ, является прецизионным и удобным инструментом для ранней детекции патологических изменений любой органной локализации.

Характерно, что сдвиги продукции специфических ауто-АТ, являются, возможно, самым ранним признаком патологических изменений. Это объясняется тем, что количество специализированных клеток любого органа, многократно превышает тот минимум, который способен обеспечить специализированные функции органа. При этом патологический процесс, сопровождающийся активацией апоптоза (превышающего по интенсивности регенераторные процессы) лишь через несколько месяцев или даже лет, может достигнуть стадии, на которой станут выявляться характерные биохимические изменения. Например, в виде повышения уровня глюкозы или содержания билирубина в сыворотке крови. Понятно, что соответствующие биохимические изменения будут выявляться лишь при наличии минимальной функциональной недостаточности органа. Еще позже появятся первые клинические симптомы органной недостаточности. Подчеркнем еще раз: биохимические (более ранние) и клинические (более поздние) признаки отражают уже ощутимую функциональную неполноценность органа. В отличие от этого, изменения со стороны ауто-АТ соответствующей специфичности, отражают патологическую интенсификацию процессов отмирания специализированных клеток органа, являющуюся самым первым этапом в формировании болезни, намного опережающим появление любых признаков органной недостаточности.

Выявление стойких изменений в наборах а-АТ имеет прямое отношение к идеологии профилактической медицины. Прецизионный анализ такого рода изменений может и должен стать эффективным инструментом доклинической диагностики самых разных нарушений в организме. Очевидно, что при условии раннего выявления начинающихся патологических процессов, развитие событий в нежелательном направлении может быть остановлено, а человек, который был обречен на развитие серьезного или даже фатального заболевания, получает возможность сохранить здоровье. Столь же понятно, что для эффективного использования подобного подхода в медицинской практике, необходимо научиться не только выявлять, но и интерпретировать парциальные изменения (относительно друг-друга) сывороточного содержания многих а-АТ.

¹⁾ Принципиально иным феноменом является первичная активация определенных клонов лимфоцитов, играющая роль основного патогенетического звена при аутоиммунных болезнях. В таких ситуациях гиперпродукция определенных а-АТ имеет очевидное патогенное значение.

Отметим, что наиболее информативно отражают формирование или наличие заболеваний не столько сдвиги концентраций отдельных а-АТ, сколько изменения парциальных соотношений между многими а-АТ (Полетаев, 1987). К сожалению, в современной медицинской практике почти не используются мультикомпонентные системы оценки содержания множества а-АТ. Большинство методов нацелено на изолированное определение а-АТ какой-либо одной специфичности (а-АТ к ДНК, гистонам, рибонуклеопротеинам, коллагену, кардиолипину и др.). Это не позволяет получить полноценной информации о характере «деформаций» Иммунокулуса и может вести к ложной интерпретации ситуации (подобно тому, как отдельная фраза, «выдернутая» из контекста, может не только не отражать, но исказить смысл сообщения).

Весь опыт нашей работы свидетельствует о необходимости работать не с единичными антигенами, а с мультикомпонентными панелями антигенов, что позволяют, в частности, методы группы ЭЛИ-Тест. Эти методы направлены на одновременную количественную оценку изменений в содержании множества естественных а-АТ разной специфичности. Т.е. системно оценить характер изменений и объективно судить, являются ли сдвиги в содержании кардиотропных или гепатотропных а-АТ отражением соответствующей органной патологии, а не признаком поликлональной активации лимфоцитов. Информативность мультикомпонентных тест-систем недавно была продемонстрирована и в работе I. Cohen (Cohen I., Domanу E., 2003).

Количественная оценка содержания специфических а-АТ уже сегодня позволяет выявлять начинающиеся потенциально опасные молекулярные перестройки, сопровождающие состояние предболезни. Можно полагать, что подробное «картирование» Иммунокулуса в будущем – т.е. детальная количественная оценка содержания тысяч естественных а-АТ в условиях нормы и патологии, позволит выйти на качественно новый уровень оценки здоровья человека и прогноза его изменений.

Иллюстрации клинической информативности технологии ЭЛИ-Тест

Методы группы ЭЛИ-Тест успешно прошли доклинические испытания, получили государственную регистрацию и разрешение на диагностическое применение. В последние годы круг медицинских учреждений, использующих эти методы, непрерывно расширяется. Практическую ценность информации, получаемой с их помощью, лучше всего проиллюстрировать конкретными примерами.

Пациент Б., 64 лет, жалоб не предъявлял, чувствует себя здоровым. При диагностическом обследовании методами группы ЭЛИ-Тест было обнаружено значительное повышение а-АТ к дс-ДНК (признак активации апоптоза), а-АТ к белку S100 (участвует в регуляции апоптоза) и а-АТ к белкам SMP-80 и SMP-200. Полученные данные можно было трактовать как паранеопластическую реакцию при росте опухоли в предстательной железе. При проведении уточняющих исследований сывороточный уровень ПСА был на верхней границе нормы. По данным ПЭТ в области простаты было выявлено интенсивное накопление меченой глюкозы. При гистологическом исследовании биопсийного материала простаты был диагностирован рак in situ (аденокарцинома). Назначено радикальное лечение.

Пациент Т., 39 лет, жалоб не предъявлял, чувствует себя здоровым. При обследовании методами группы ЭЛИ-Тест было обнаружено значительное повышение а-АТ к инсулиновым рецепторам. Содержание глюкозы натощак составило 4,9 нМ, глюкозотолерантный тест не выявил патологических изменений. Последующие динамические наблюдения позволили обнаружить нарушение толерантности к глюкозе через 8 месяцев после обнаружения изменений со стороны а-АТ к инсулиновым рецепторам. Клиническое заключение: формирующийся сахарный диабет типа II.

Пациент М., 56 лет, в прошлом регулярно занимался боксом. Жалобы на частые головные боли в последние 2 года, повышенную утомляемость, снижение памяти. При обследовании методами группы ЭЛИ-Тест было обнаружено повышение а-АТ к астроцитарному белку GFAP (признак глиоза). Последующее уточняющее исследование (МРТ головного мозга) выявило признаки ранее перенесенных нарушений мозгового кровообращения (справа в области базальных ядер выявлен участок сниженной плотности). На ЭЭГ обнаружена повышенная судорожная готовность.

Пациентка Б., 34 лет. Первичное бесплодие, непроходимость обеих маточных труб. В анамнезе 4 безуспешные попытки ЭКО. При обследовании методами группы ЭЛИ-Тест было обнаружено значительные нарушения в продукции эмбриотропных а-АТ, признаки анти-ХГЧ синдрома, патологическое повышение продукции а-АТ к белку S100 (участвует в регуляции апоптоза). После 4-месячного лечения показатели сывороточного содержания эмбриотропных а-АТ вернулись к норме. Последующая попытка ЭКО была результативной (нормальное развитие гестационного процесса, завершившаяся рождением живого новорожденного с балльностью 8-9 по шкале Апгар).

Приведенные примеры иллюстрируют прогностические возможности оценки серовороточного содержания а-АТ, в первую очередь, для выявления уже имеющейся патологии в доклинической стадии или для уточнения диагноза. Очевидно, что дальнейшее совершенствование этих методов, позволит выявлять не только имеющуюся, но и формирующуюся патологию на доклинических стадиях ее развития.

Таким образом, концепция «Иммункулуса» может стать основанием для формирования новой медицинской стратегии, основанной на максимально раннем выявлении патологических изменений молекулярного уровня, которые могут вести к развитию множества соматических, эндокринных, онкологических, неврологических заболеваний задолго до появления их первых клинических симптомов. Это может привести к пересмотру основной парадигмы современной медицины и реально повернуть медицинскую практику от лечения к предотвращению болезней (от принципа БОЛЕЗНЬ-ЛЕЧЕНИЕ к принципу ПРОГНОЗ-ПРОФИЛАКТИКА).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СЛЕДСТВИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ПРОНИКНОВЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ *in vivo*

Alejandro Ruiz-Argüelles

Laboratorios Clínicos de Puebla, Puebla, México

До того как на примере антител к ядерному рибонуклеопротеину было экспериментально доказано, что человеческие аутоантитела (а-АТ) класса IgG способны проникать в живые лимфоциты и реагировать со своим антигеном внутри ядра [1], считалось что АТ взаимодействуют только внеклеточными антигенами. Эти представления ограничивали активность гуморального иммунитета менее чем одной третью общего объема жидкости человеческого тела. Часто выявляемые у пациентов с аутоиммунными болезнями а-АТ к внутриклеточным антигенам, рассматривали лишь как подспорье диагностики, однако им редко отводили патогенетическую роль (за исключением участия в иммунокомплексных болезнях [2]). Однако если бы потенциальное патогенное действие а-АТ ограничивалось лишь иммунокомплексными повреждениями, все аутоиммунные болезни должны были бы быть органонеспецифичными и иметь очень узкий спектр клинических проявлений. Тот факт, что органспецифичность болезней определяется антигенной специфичностью АТ, подтверждает гипотезу об участии определенных АТ к внутриклеточным антигенам в патогенезе таких заболеваний.

За первой демонстрацией проникновения а-АТ внутрь живых клеток, последовало большое число работ, описывающих проникновение АТ разной специфичности в клетки животных и человека. Помимо подтверждения первых результатов, эти работы содержали доказательства того, что именно взаимодействия между АТ и внутриклеточными антигенами влияет на функции клеток, что, в свою очередь определяет патофизиологические и клинические особенности аутоиммунных заболеваний.

Обзор большинства таких исследований был представлен на 4-м Симпозиуме по аутоантителам, прошедшем в Дрездене в октябре 1998 [3], где обсуждались данные о проникновении АТ внутрь живых клеток, их возможная патофизиологическая роль и потенциальные возможности их использования в терапевтических целях для доставки белков, лекарств, радиопрепаратов или генов в живые клетки.

Эффекты пенетрации антител

Анти-U1snRNP АТ класса IgG могут проникать в субпопуляции человеческих Т-лимфоцитов, что сопровождается остановкой клеточного цикла в фазе G0/G1 и запуском апоптоза [4-7]. Моноклональные АТ к нативной ДНК (dsДНК), проникающие внутрь человеческих лимфоцитов, могут запускать как аномальную активацию, так и запрограммированную гибель большей части клеток [8-10]. АТ к dsДНК, после проникновения в клетки почечных клубочков, способны вызывать слияние подоцитов [11]. В результате

проникновения в культивируемые гепатоциты АТ к рибосомальному Р-белку снижают синтез аполипопротеина В и накопление холестерина [12].

Проникновение а-АТ в нервные клетки было показано в ряде ситуаций: АТ к ядерному Nu антигену, присутствующие в сыворотке некоторых пациентов с мелкоклеточной карциномой легкого, проникают в клетки ЦНС и, возможно, имеют отношение к патофизиологии паранеопластической нейропатии у таких пациентов [13]; АТ к реоведину (23 кД белок сетчатки), способны проникать в фоторецепторы и биполярные клетки сетчатки и индуцировать их апоптоз, что, в свою очередь, может объяснять повреждение клеток сетчатки и потерю зрения в отсутствие воспалительных явлений у пациентов с такими АТ [14]; АТ к dsДНК также проникают в первичные корковые нейроны крысы, как сами по себе, так и в качестве переносчиков других белков. Согласно последним наблюдениям нашей группы, апоптоз меланоцитов при витилиго происходит вследствие проникновения АТ в эти клетки [15]. АТ к шаперону HSP27, выявляемые при глаукоме, проникают в нервные клетки сетчатки человека и запускают их апоптоз путем инактивации HSP27, который стабилизирует актиновый цитоскелет [16]. У больных с демиелинизирующей IgM моноклональной нейропатией в сыворотке присутствуют АТ к миелинассоциированному гликопротеину (МАГ) и к сульфатированным глюконозилгликолипидам (СГГЛ), которые проникают внутрь миелинизированных волокон и в эндоневральное пространство [17]. Предполагается, что а-АТ к ряду внутриклеточных антигенов нервной системы (такие АТ образуются под действием некоторых химических соединений), могут играть ключевую роль в прогрессии нейродегенеративных заболеваний [18-19].

Внутриклеточное проникновение АТ подтверждается и другими работами. В том числе, данными о наличии иммуноглобулинов в ядрах живых клетках эпидермиса и лимфоцитов у пациентов, страдающих смешанным заболеванием соединительной ткани с высокими титрами АТ к РНП [20-21]. Проникновение анти-dsДНК АТ в клетки клубочков мышечной ткани вызывает протеинурию [10]. В кардиомиоцитах новорожденных с полной сердечной блокадой, показано наличие АТ к антигенам Ro/SSa, присутствующих в высоких титрах в сыворотках их матерей [22]. Отмечено снижение цитозольно-митохондриального потенциала фосфорилирования АТФ в клетках миокарда после пенетрации АТ к транспортеру АДФ/АТФ [23]. При индуцированном ртутью системном аутоиммунном заболевании мышечной ткани с генотипом H-2s, антиядрышковые АТ выявляются внутри ядер клеток почек и печени [24]. В экспериментах с введением беременным мышам различных антиядерных человеческих АТ наблюдалась гибель плода или его недоразвитие [Garza-Elizondo, et al, готовится к печати].

Самым частым результатом внутриклеточной пенетрации АТ является индукция апоптоза, патогенетическая роль которого может быть весьма значительной. Понятно, что запуск апоптоза проникающими АТ может осуществляться по разными механизмами. Деталей их не изучены, хотя показано, что после пенетрации АТ к dsДНК в лимфоциты, последние экспрессируют больше CD95/Fas при активации митогенами [7, 9]. Однако когда воздействию тех же АТ подвергаются неактивированные лимфоциты, их апоптоз происходит без повышения экспрессии Fas-рецептора [25]. АТ к HSP27 индуцируют апоптоз клеток, вероятно, посредством влияния на HSP27-зависимую стабилизацию структуры цитоскелета [17]. АТ к «исполнителю» программированной клеточной гибели - цистеин-аспаратной протеазе-3 (каспазе-3), запускают аутоактивацию каспазы-3, что и приводит к гибели клетки [26]. Проникая в клетки, вероятно в зависимости от своей антигенной специфичности, а-АТ могут запускать и другие пути апоптоза [27]. Предварительные данные, полученные в нашей лаборатории, позволяют предположить, что некоторые пенетрирующие апоптогенные моноклональные АТ к dsДНК могут распознавать специфические нуклеотидные последовательности и непосредственное взаимодействие таких а-АТ с ДНК может являться дополнительным проапоптотическим механизмом.

Последствия апоптоза, провоцируемого проникающими АТ, по-видимому, весьма многогранны, поскольку: активная гибель клеток нервной системы, вызванная пенетрацией АТ к Nu-антигену, реоверину, HSP27, MAG, SGGLs и другим, вероятно, вносит вклад и в патофизиологию, и в клиническую картину заболеваний, для которых характерны эти АТ. По всей видимости, при проникновении внутрь клеток сердца АТ к Ro/SSa или к переносчику АДФ/АТФ, они играют роль поздних эффекторов в развитии сердечной блокады и миокардита соответственно. Однако АТ, индуцирующие апоптоз, могут участвовать в патогенезе заболеваний и на более ранних этапах – опосредованно индукцией патологических аутоиммунных реакций.

Вопреки распространенному мнению о том, что продукция а-АТ обычно не контролируется аутоантигенами, недавно полученные данные позволяют предположить, что в некоторых случаях, как, например, при аутоиммунном ответе на рибосомальный белок Р [28], активация аутореактивных клонов непосредственно индуцируется соответствующими антигенами. Презентацию собственных антигенов может обеспечивать апоптоз. Тем более, что апоптотические тельца (blebs, остатки клеток после программируемой гибели), содержат кластеры антигенов, вовлеченных в аутоиммунные феномены [29]. Показано, что иммунизация мышей большими дозами апоптотических телец приводит к увеличению сывороточной концентрации гаммаглобулинов и появлению АТ к кардиолипину и ДНК [30]. Возможно, что нарушение фагоцитоза апоптотических телец является одним из механизмов индукции синтеза а-АТ при системных аутоиммунных заболеваниях [31]. Обзор работ, посвященных роли апоптоза, как механизма аутоиммунизации, представлен в ряде работ [32-34].

Имеется прогресс и в понимании того, что апоптоз, обусловленный АТ к dsДНК, может играть физиологическую роль в редактировании иммунного репертуара и элиминации аутореактивных клонов лимфоцитов [4]. Это подтверждается сведениями о повышенной пенетрации АТ и апоптозу активированных митогенами незрелых лимфоидных клеток по сравнению со зрелыми [7]. О том же говорят эффекты одновременного введения АТ к dsДНК и небольших пептидных антигенов облученным Balb/c мышам, в результате чего у мышей формируется толерантность к бустерным инъекциям тех же (но не посторонних) антигенов [Ruiz-Argüelles A, *et al*, готовится к печати]. Эти данные свидетельствуют, что, будучи активированными, незрелые лимфоциты становятся особенно чувствительными к апоптозу, зависимому от пенетрирующих АТ. Согласно физиологическому сценарию, возможно, что антигенная активация аутореактивных лимфоидных клеток плода обеспечивает их элиминацию путем пенетрации естественных АТ к dsДНК.

Молекулярные особенности пенетрирующих антител

Была установлена первичная последовательность нескольких моноклональных АТ к dsДНК. Кроме того, были исследована структура АТ аутоиммунных MRL-lpr/lpr мышей. В результате было показано наличие характерных для проникающих в ядра АТ мотивов в CDR3 области их тяжелых цепей. Хотя общей первичной последовательности не было обнаружено, все 3 проникающих в ядра АТ обладали общей третичной структурой, не имеющейся у не пенетрирующих АТ к dsДНК [35-36]. Точно так же, пенетрирующие моноклональные АТ к dsДНК мышей NZB x NZW_{F1} обладали выраженной гомологией первичной структуры их CDR2 и CDR3 областей тяжелых цепей [37]. Синтетические пептиды, содержащие CDR2 и CDR3 структуры пенетрирующих АТ к dsДНК, также были способны проникать внутрь живых клеток и транслоцироваться в ядро и могли служить векторами для интернализации других молекул [38]. В то же время пептидные аналоги CDR2 и CDR3 последовательностей непенетрирующих АТ не проникали внутрь клеток и не транслоцировались в ядро. Анализируя последовательности пептидов, сходных с пенетрирующими и непенетрирующими АТ к dsДНК, можно предполагать, что структуры, ответственные за распознавание dsДНК расположены в области CDR2, а за внедрение в клетку и транслокацию в ядро – участки как CDR2, так и CDR3

областей. Все три АТ, структура CDR2/CDR3 областей которых показана ниже, были получены от NZB x NZW_{F1} мышей и связывались с dsДНК; АТ F4.1 и J20.8 были способны преодолевать клеточную мембрану, проходить в ядро и запускать гибель клетки, тогда как АТ F14.6 таких свойств не имели.

VAYYISRGGVSTYYSDTVKGRFTRQKYNKRA	F4.1
AYISRGGGIFYYQDISKGRFTREKYGKRGMDY	J20.8
AISRGGVYSYYLDVKRTARATWDFAY	F14.6

Анализ семейств VH генов и паттернов перекрестной реактивности этих АТ свидетельствуют о том, что они являются продуктами зародышевых генов [37, 39]. Эти данные указывают, что способность к пенетрации в живые клетки, проникновение в ядро и запуск апоптоза, характерны прежде всего для естественных АТ к dsДНК и свидетельствуют в пользу физиологической значимости феномена пенетрации АТ.

Механизмы транспорта АТ через клеточную мембрану, их переноса через цитоплазму и достижения антигенов-мишеней в ядре или других компартментах, остаются неизвестными. Возможно, они связаны с экспрессией специфичных или перекрестно реагирующих антигенов на поверхности клетки, либо с участием рецепторов к Fc-фрагментам молекул АТ [3, 41, 42]. Для объяснения транс-цитозольного транспорта АТ, предложен ряд возможных механизмов, однако полной ясности пока нет. Ряд авторов предполагали возможность интернализации АТ клатриновыми везикулами и последующего их высвобождения (за счет изменения рН или гипотонического лизиса пиносом [42-44]), однако подтвердить участие пиноцитозных пузырьков в этом феномене не удалось. Поэтому был предположен ряд механизмов\ прохождения АТ через цитоплазму с участием других белков, таких как миозин I, который работает как шаперон, или анти-Ro/La АТ, как эффекторы ядерного импорта других α-АТ [39, 45, 46]. Мы отмечали, что лишь некоторые АТ к dsДНК действительно ко-локализуются с клатрином (данные иммуно-электронной микроскопии), тогда как другие обнаруживались в цитоплазме вне ассоциации с клатрином [Martinez-Villalpando, *et al.* неопубл.]. Предварительные данные нашей лаборатории позволяют предположить, что в интернализации и транспорте АТ могут участвовать переносчики из семейства ABC-насосов, поскольку ряд блокаторов Ca²⁺-каналов ведут к внутриклеточному накоплению анти-dsДНК АТ. Интересно, что хотя внутриклеточная мобилизация Ca²⁺ является очень ранним событием при пенетрации АТ, их интернализация, по всей видимости, от этого феномена не зависит [Ruiz-Argüelles A, *et al.* неопубл.].

Терапевтические приложения

Несколько лет назад было показано, что некоторые пенетрирующие АТ к dsДНК, их Fab фрагменты или синтетические пептиды-аналоги областей CDR2/CDR3 их тяжелых цепей, способны переносить ковалентно связанные гаптены или макромолекулы внутрь ядра клеток [37, 38]. Независимо от этого было доказано, что тяжелая цепь АТ к dsДНК другой специфичности, обозначенная 3E10, так же способна переносить высокомолекулярные комплексы антитело-фермент в ядра живых клеток [47, 48]. Эти наблюдения свидетельствуют о потенциальной применимости АТ в качестве векторов для транслокации некоторых молекул в клетки с терапевтическими целями.

Интересная система доставки комплекса АТ-фермент была разработана путем ковалентной сшивки моноклонального АТ (3E10) к dsДНК с каталазой. Такие конъюгаты были способны проникать в цитоплазму и ядра корковых нейронов крыс и сохраняли здесь каталазную активность, обеспечивая устойчивость нейронов к перекиси водорода, в отличие от нетрансфицированных аналогов. Это может являться примером целого нового подхода к селективной заместительной терапии при врожденной ферментной недостаточности [14].

Благоприятный прогноз течения болезни у больных раком толстой кишки, имеющих высокие титры АТ к РЭА [51], позволяет рассчитывать на использование цитотоксического эффекта АТ к опухолеассоциированным антигенам (в том числе, к РЭА) [49, 50] для контроля за опухолевым ростом. Однако по большей части АТ к опухолевым антигенам используются как носители ферментов, лекарств, радиопрепаратов или генов в для их доставки к злокачественным клеткам. Многообещающий пример АТ-зависимой системы лекарственной доставки – конъюгат анти-HER2 моноклонального АТ с гелданамицином. HER2 в больших количествах экспрессируется на поверхности клеток инвазивной карциномы молочной железы. Ранее коммерческие АТ к HER2 использовались для лечения рака с малообнадёживающими результатами. Экспрессия HER2 может быть эффективно подавлена антибиотиком гелданамицином (ГА), который, однако является высокотоксичным. Сконструированный конъюгат ГА с интернализирующимся анти-HER2 АТ заметно ингибировал как экспрессию HER2, так и опухолевый рост. Контрольный конъюгат (на основе непенетрирующего анти-HER2 АТ) не проявлял таких свойств [52, 53].

Гидрофильные сенситайзеры считаются весьма перспективными агентами для фотодинамической терапии опухолей, однако, поскольку они неспособны преодолеть клеточную мембрану, их эффективность весьма ограничена. Конъюгация гидрофильного производного порфирина TrisMPyP-PhiCO₂N с двумя интернализуемыми АТ U36 и 425 увеличивает эффективность фототоксических агентов *in vitro*, тогда как конъюгаты на основе непенетрирующих АТ E48 такими свойствами не обладают. Исследование распределения конъюгатов *in vivo* (у голых мышей, склонных к спонтанному опухолеобразованию) показали, что гидрофильные фотосенситайзеры селективно концентрируются в опухолях, что может иметь терапевтическое значение [54].

Интерес к использованию АТ к РЭА в иммунотерапии злокачественных опухолей привел к биоинженерной разработке ряда конъюгатов, различающихся по молекулярной массе, аффинности, валентности, специфичности и способности проникать в опухоль [55]. Некоторые из этих АТ были мечены изотопами для адресной радиотерапии. Анализ противоопухолевой эффективности интернализуемых mAb CO17-1A, меченных ¹²⁵I или ¹¹¹In, показал их повышенную противоопухолевую активность *in vivo* в сравнении с неинтернализуемыми АТ против РЭА, меченными ¹²⁵I или ⁹⁰Y. Помимо большей эффективности изотопов, было доказано их меньшее повреждающее влияние на костный мозг. Предполагается, что источники электронов Оже имеют меньшую токсичность в связи с укорочением пробега электронов низкой энергии, которые могут достигнуть ДНК, только при интернализации АТ [56].

Генноинженерный одноцепочечные АТ к РЭА успешно применяются в радиоиммунотерапии: меченые антитела (¹²⁵I-MFE-23-his) перед операцией вводятся внутривенно онкобольному и с помощью ручного детектора определяются границы опухоли и пределы операционного поля. Быстрый выход из кровотока и хорошее проникновение в опухоль – серьезное преимущество перед целыми молекулами АТ, использовавшимися ранее для тех же целей [57].

Доставка генов. Весьма элегантно показано, что два моноклональных АТ к dsДНК, F4.1 и J20.8 (от наивных NZB x NZW_{F1} мышей), при конъюгации с полилизинным «хвостом» могут служить переносчиками генов. Несущий 19 остатков лизина на N-конце 30-членный пептидный аналог объединенных участков CDR2 и CDR3 mAb F4.1, оказался эффективным вектором для переноса гена люциферазы в люциферазонегативные линии клеток. Таким образом, полилизинный хвост способен превратить спонтанно проникающий в клетку пептид в потенциальный вектор [38, 58].

Другим примером успешного переноса гена *in vitro* служит способность mAb G250 против опухолеассоциированного антигена G250TAA (экспрессируется большинством клонов карциномы почки человека), транслоцировать плазмидную кДНК, кодирующую мышинный интерлейкин-2. Клетки человеческой карциномы, пенетрированные

такими конъюгатами, активно продуцируют мышинный интерлейкин-2 в течение 5-15 дней, тогда как неконъюгированная плазмидная ДНК, которая не интернализуется, не индуцирует выработку этого цитокина. Интернализация mAb G250 могла бы быть основой для переноса генов в плане генной терапии рака [59].

Недавние попытки осуществить быструю идентификацию и выбор из фаговых библиотек мышинных моноклонов или опухолеспецифичных АТ с учетом их способности к проникновению внутрь живых клеток подтверждают широкие возможности терапевтического применения интернализуемых АТ в ближайшем будущем [60, 61].

Заключительные комментарии

С нашего первого описания проникновения человеческих АТ внутрь живых клеток человека прошло более четверти века. По началу эти данные были встречены с явным скептицизмом, поскольку они противоречили существовавшей догме. Спустя годы феномен, который мы исходно доказали при помощи достаточно простых подходов, был многократно подтвержден с помощью новых аналитических методов и нами и другими исследователями. Были раскрыты некоторые механизмы этого феномена, однако до полноты картины еще далеко. В будущем мы могли бы изучить детали механизмов нацеливания АТ на конкретные клетки, преодоления ими клеточной мембраны и различных внутриклеточных компартментов, и выполнения своей биологической функции. Мы надеемся, что понимание деталей феномена, позволит не только разобраться в физиологической и патологической роли поступления АТ внутрь живых клеток, но и использовать ее в целях профилактики и лечения [62]. В настоящее время основное внимание мы уделяем заболеваниям, наиболее вероятно вызываемых антителами, при которых апоптоз, по всей видимости, является краеугольным камнем повреждения и нарушения функции клеток. После доказательства возможности меланоцит-специфичных АТ проникать внутрь меланоцитов и запускать их апоптоз [15] последовало несколько клинических исследований, призванных доказать благоприятные эффекты иммуносупрессивной терапии витилиго.

References

1. Alarcón-Segovia D, Ruiz-Argüelles A, Fishbein E. *Nature* 1978; 271:67-68
2. Abbas AK, Lichtman AH, Jordan SP. *Cellular and Molecular Immunology*. 3rd Edition. WB Saunders, Philadelphia 1997. Pp 406-422
3. Ruiz-Argüelles A, Alarcón-Segovia D. Penetration of autoantibodies into living cells. *In*: Conrad K, Humbel RL, Meurer M, Shoenfeld Y, Tan EM eds. *Pathogenic and Diagnostic Relevance of Autoantibodies. Update: Clinical Immunology* 1998; 9: 46-56
4. Alarcón-Segovia D, Llorente L, Ruiz-Argüelles A. *J Autoimmun* 1996; 9: 295-300
5. Alarcón-Segovia D, Ruiz-Argüelles A, Llorente L. *J Immunol* 1979; 122:1855-1858
6. Alarcón-Segovia D, Ruiz-Argüelles A, Llorente L. *Clin Immunol Immunopathol* 1982; 23:22-26
7. Ruiz-Argüelles A, et al. *J Autoimmun* 1998; 11:547-556
8. Alarcón-Segovia D, et al. *Arthritis Rheum* 1995; 3: S179
9. Portales-Pérez D, et al. *J Autoimmun* 1998; 11: 563-571
10. Rivadeneyra-Espinosa Rivadeneyra-Espinoza L, Ruiz-Argüelles A. *J Autoimmunity*. 2006; 26: 52-56.
11. Madaio MP, Yanase K. *J Autoimmun* 1998; 11: 535-538
12. Reichlin M. *J Autoimmun* 1998; 11: 557-561
13. Hormigo A, Lieberman F. *J Neuroimmunol* 1994; 55: 205-212
14. Adamus G, et al. *J Autoimmun* 1998; 11: 523-533
15. Ruiz-Argüelles A, et al. *J Autoimmun* 2007; 29: 281-286
16. Tezel G, Wax MB. *J Neurosci* 2000; 20: 3552-3562
17. Ritz MF, et al. *Muscle Nerve* 1999; 22: 1030-1037
18. Yu RK, Ariga T. *Ann NY Acad Sci* 1998; 845: 285-306
19. El-Fawal HA, et al. *Environ Health Perspect* 1999; 107 Suppl 7: 767-775
20. Golan TD, et al. *Lupus* 1997; 6: 18-26
21. Alarcón-Segovia D, Ruiz-Argüelles A, Fishbein E. *Clin Exp Immunol* 1979; 35:364-368
22. Reichlin M, et al. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1698-1703
23. Schulze K, Becker BF, Schultheiss HP. *Circ Res* 1989; 64: 179-192
24. Abedi-Valugerdi M, Hu H, Moller G. *Int Immunol* 1999; 11: 605-615
25. Schmidt-Acevedo S, Pérez-Romano B, Ruiz-Argüelles A. *J Autoimmun* 2000; 15: 15-20

26. Tse E, Rabbitts TH. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000; 97: 12266-12271
27. Ruiz-Argüelles A, Alarcón-Segovia D. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61(suppl 235):31-37.
28. Stafford HA, et al. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 119-124
29. Williams RC Jr, Peen E. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 643-647
30. Mevorach D. *Ann NY Acad Sci* 1999; 887: 191-198
31. Kalden JR. *Lupus* 1997; 6: 326-327
32. Shoenfeld Y, et al. Frontiers of SLE: review of the 5th International Congress of Systemic Lupus Erythematosus, Cancun, Mexico, April 20-25, 1998. *Semin Arthritis Rheum* 1999; 29: 112-130
33. Kubota T. *Nippon Rinsho* 1999; 57: 329-332
34. Casiano CA, Tan EM. *Clinical Immunology* 1998; 9: 70-84
35. Foster MH, et al. *Immunol Res* 1994; 13: 172-185
36. Madaio MP, Yanase K. *J Autoimmun* 1998; 11: 535-538
37. Ternynck T, et al. *J Autoimmun* 1998; 11: 511-521
38. Avrameas A, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 96: 5601-5606
39. Deng SX, Hanson E, Sanz I. *Int Immunol* 2000; 12: 415-423
40. Malmborg AC, et al. *J Autoimmun* 1998; 11: 573-580
41. Athanassakis I, Protopapadakis E, Vassiliadis S. *Cell Immunol* 2000; 199: 81-88
42. Alarcón-Segovia D. *Clin Immunol Allergy* 1981; 1: 117-126
43. Goldtsein JL, Anderson RGW, Brown MS. *Nature* 1979; 279: 679
44. Okada CY, Rechsteiner M. *Cell* 1982; 29: 33-41
45. Milligan RI. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 21-26
46. Golan TD, et al. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 1): 121 (abstract)
47. Zack DJ, et al. *J Immunol* 1996; 157: 2082-2088
48. Weisbart RH, et al. *J Autoimmun* 1998; 11: 539-546
49. Matzku S, et al. *Br J Cancer* 1990; 62 (suppl): 1-5
50. Mariani G, Kassis AI, Adelstein SJ. *J Nucl Med All Sci* 1990; 34: 51-55
51. Albanopoulos K, et al. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1056-1061
52. Mandler R, et al. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1573-1581
53. Park JM, et al. *Hybridoma* 1999; 18: 487-495
54. Vrouenraets MB, et al. *Int J Cancer* 2000; 88: 108-114
55. Mayer A, et al. *J Immunol Methods* 1999; 231: 261-273
56. Behr TM, et al. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 753-765
57. Mayer A, et al. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1711-1719
58. Avrameas A, et al. *Bioconjug Chem* 1999; 10: 87-93
59. Durrbach A, et al. *Cancer Gene Ther* 1999; 6: 564-571
60. Poul MA, et al. *J Mol Biol* 2000; 301: 1149-1161
61. Jaime J, Page M. *Int J Oncol* 2000; 17: 835-839
62. Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Alarcón-Segovia D. *Curr Pharm Des* 2003;9(23):1881-7

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИОКСИДОНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НА ПРИМЕРЕ АБСЦЕССОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Санаев А.О.², И.А. Качков³, Л.И. Винницкий¹, А.Н. Коновалов⁴, С.В. Сучков^{2,3}

¹РНЦ хирургии РАМН, Москва; ²ММА им. И.М. Сеченова, Москва; ³МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва; ⁴НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН, Москва, Россия

Одной из проблем, возникающих при лечении инфекционно-воспалительной патологии ЦНС, такой как абсцесс головного мозга, является возникновение постинфекционного аутоиммунного синдрома (ПИФАС), а также ряда других клинико-иммунологических синдромов: синдрома постинфекционного вторичного иммунодефицита (СПИВИД) и постинфекционного аутоиммунного синдрома, ассоциированного с вторичным иммунодефицитом (СПИВИДАС). Выраженность иммунных реакций, соответственно, зависит от характеристических особенностей каждого из перечисленных синдромов, являя максимальную степень дисрегуляции иммунных параметров в случае ПИФАС и СПИВИД. Необходимость применения иммуотропных препаратов, таких как «Полиоксидоний», для эффективной терапии подобных состояний очевидна, но многообразие форм иммунного ответа предполагает не только монотерапию, а включение препарата с иммунофармакологическим действием в патогенетически ориентированную, комбинированную программу лечения.

ИММУНОМОНИТОРИНГ И ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИЯ В ПРАКТИКЕ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ (ИКИВП)

А.О. Санаев², И.А. Качков³, Л.И. Винницкий¹, А.Н. Коновалов⁴, С.В. Сучков^{2,3}

¹РНЦ хирургии РАМН, Москва, Россия; ²ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; ³МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия; ⁴НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН, Москва, Россия

Развитие синдрома постинфекционного вторичного иммунодефицита (СПИВИД), а также постинфекционного аутоиммунного синдрома сопровождается практически любой инфекционный процесс (ПИФАС), выражаясь в угнетении одних и стимуляции других звеньев системы иммунитета. Интракраниальные инфекционно-воспалительные процессы (ИКИВП) не являются исключением, причём развитие аутоиммунитета в данном случае является одним из факторов дальнейшего прогрессирования патологии. Наиболее неблагоприятным в этом плане является сочетание иммунодефицита и аутоиммунного синдрома (ПИФАС, ассоциированный с вторичным иммунодефицитом (СПИВИДАС)). Впервые в комплексных исследованиях совокупных параметров иммунного статуса у таких пациентов продемонстрированы: состояние иммунологической реактивности у больных с ИКИВП, ассоциированного с тем или иным вариантом клинико-иммунологического синдрома (СПИВИД, ПИФАС или СПИВИДАС); (б) возможность прогнозирования течения аутоиммунного процесса и развития его осложнений; (в) оценка степени рисков прогрессирования клинической картины при доминировании определенного варианта клинико-иммунологического синдрома. Наши данные в сочетании с клиническими наблюдениями составляют основу для разработки протокола клинико-иммунологического мониторинга и иммунореабилитации указанной категории больных.

ОЦЕНКА НОВЫХ ЗВЕНЬЕВ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ – НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ

А.В. Симонова¹, Ж.Р. Газарян²

¹ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва; ²РУДН, Москва, Россия

Лечение хронических, часто рецидивирующих вирусных и бактериальных инфекций, трудно поддающихся терапии, является серьезной медицинской проблемой. Оценка состояния иммунитета и коррекция нарушенных звеньев приводит к удлинению ремиссии, уменьшению числа рецидивов, но не решает проблемы в целом, в ряде случаев клиническое улучшение состояния пациентов не происходит.

При хронических инфекционных процессах нередко обнаруживается супрессия основных звеньев иммунитета: фагоцитоза – при бактериальных инфекциях, показателей клеточного иммунитета, интерферонового статуса – при вирусных процессах. В подобных случаях применяется иммунотерапия с учетом выявленных нарушенных звеньев иммунитета. Лечение хронических бактериальных инфекций включает антибактериальную терапию в сочетании с иммунными препаратами, как правило, стимулирующими фагоцитоз, при хронических вирусных процессах используются противовирусные препараты в сочетании с индукторами интерферона и/или интерферонами, а также, по показаниям, применяются стимуляторы клеточного звена иммунитета.

Однако результаты терапии не всегда удовлетворяет пациентов и врачей – рецидивы заболевания продолжают. Это наблюдается в ситуациях, когда при хронических инфекциях основные звенья иммунитета - клеточное, гуморальное, фагоцитарное, активированы: повышены показатели фагоцитоза, численности субпопуляций, функциональной активности лимфоцитов, продукции провоспалительных цитокинов, однако ответ на этиологически значимые антигены возбудителей заметно снижен.

В настоящее время в мире формируется новое направление по оценке иммунитета – определение состояния естественного аутоиммунитета, которое, по нашему мнению будет иметь большое практическое значение для улучшения качества лечения пациентов с хроническими инфекционными заболеваниями. Показано, что у здоровых лиц существует

физиологический, нормальный уровень аутоантител различной (органной, клеточной) специфичности: 30% Ig G в сыворотке – это аутоантитела. Они выполняют функцию «мусорщиков», обладают ферментативной активностью, являются первым противоинфекционным барьером и др., т.е. являются физиологическими регуляторами гомеостаза в органах и тканях человека. Определение состояния аутоиммунитета позволяет оценивать новые звенья иммунопатогенеза при хронических заболеваниях, выявлять наличие аутоиммунных процессов.

В настоящее время с помощью ИФА можно определять уровень естественных аутоантител различной специфичности в сыворотке, оценивать «иммунитет в органах и системах». Имеются нормативные значения показателей в различных возрастных группах. В практической деятельности важно оценивать как повышенный (активация), так и сниженный (иммуносупрессия) уровень аутоантител.

При выявлении измененного уровня аутоантител рекомендуется на основе сбора анамнеза, проведение дополнительных лабораторно/инструментальных исследований, позволяющих обнаружить нарушения в определенных органах и системах.

Так, нами показано, что у 70% лиц с рецидивирующим фурункулезом ($n = 30$) имеется транзиторное повышение уровня аутоантител к инсулину, рецепторам инсулина ($p < 0,05$). Среди этих пациентов у 50% отмечалось транзиторное повышение глюкозы в сыворотке крови, у 20% – признаки хронического панкреатита, у 30% – наследственная предрасположенность к сахарному диабету.

После комплексного лечения, включающего этиотропную терапию в сочетании с иммунными препаратами, лечение очагов хронической инфекции, хронического панкреатита, нормализацию уровня глюкозы у пациентов в стадии стойкой ремиссии фурункулеза уровень соответствующих аутоантител нормализовался, это сочеталось со стойкой это сочеталось со стойкой ремиссией фурункулеза (2 – 3 года).

При хронической герпес-вирусной инфекции, в среднем, у 30% лиц выявляется повышенное содержание аутоантител к антигенам эндотелия сосудов (ANCA), у 20% лиц – к антигенам печени, у 20% пациентов – к антигенам тонкого кишечника, у 20% лиц – повышение антител к инсулину, рецепторам инсулина. При выявлении нарушений в органах с помощью современных лабораторно/инструментальных методов, пациентам проводилась соответствующая терапия в сочетании с противовирусными препаратами, иммунотерапией, широко использовалась озонотерапия. Получена стойкая ремиссия ГВИ средней тяжести при ранее частых рецидивах.

Таким образом, определение уровня естественных органотропных аутоантител позволяет выявлять: 1) наличие системного или органного аутоиммунного процесса (активация аутоиммунитета), 2) наличие супрессии гуморального звена иммунитета (супрессия уровня естественного аутоиммунитета различной специфичности), 3) наличие органов-мишеней для вирусов при хронических вирусных или бактериально-вирусных процессах.

СОДЕРЖАНИЕ ИММУННЫХ ФАКТОРОВ В КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ПРОЖИВАНИЯ

А.Г.Смирнова¹, И.С.Колбай¹, А.Т.Оразова¹, Л.И.Нургалиева², С.Г.Нурлыбаева³

¹Институт физиологии человека и животных, ²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, ³2 женская консультация, Алматы, Казахстан

Стрессы, испытываемые женщинами во время беременности, приводят к различным нарушениям репродуктивных функций (Humenick S.S. at al., 2003). Одним из главных источников стрессовых воздействий на организм беременных является неблагоприятный экологический фон. Так, симптомы различных нарушений встречаются у 91,2% будущих матерей в г. Алматы. 12% жительниц города во время беременности заболевают той или иной патологией органов дыхания, которая может быть обусловлена высокой загрязненностью атмосферного воздуха (Нургалиева Л.И. с соавт., 2006).

Цель настоящего исследования заключалась в изучении содержания клеточных и гуморальных факторов иммунитета у беременных, проживающих в различных экологических условиях.

Материалы и методы. Обследование проводилось в III триместре беременности в осенне-зимний период. В данный период в г. Алматы отмечаются наиболее высокие уровни загрязнения атмосферы. 25 беременных проживали в экологически «чистом» районе (I группа – контрольная). 26 женщин проживали в районе с повышенным уровнем загрязнения атмосферного воздуха (II группа). При оценке уровня загрязненности воздуха опирались на официальные данные Казгидромета. В крови обследуемых с помощью геманализатора КХ-21 определяли общее количество лейкоцитов, абсолютное и относительное количество малых (лимфоциты), средних (базофилы, эозинофилы и моноциты) и крупных (нейтрофилы) клеток. Содержания иммуноглобулинов А, М, G определяли с помощью ИФА.

Результаты. У беременных, проживающих в экологически «грязном» районе, наблюдалось уменьшение общего количества лейкоцитов на 15,5%. Абсолютное количество лимфоцитов по группам не различалось. Абсолютное количество нейтрофилов было выше у беременных из «чистого» района на 21,4%, в то же время абсолютное количество средних клеток в этой группе было ниже на 17,7%. Относительные уровни лимфоцитов колебались от 18,1% в I-ой группе до 21,0% во II-ой, средних клеток – от 7,1% до 9,3%, нейтрофилов – от 74,8% до 69,4% соответственно.

Средние значения концентраций иммуноглобулинов как в I, так и во II группе, находились в пределах нормы. При этом у беременных из экологически «грязного» района наблюдалось снижение концентраций всех классов иммуноглобулинов. Полученное различие составило для IgA - 47,6%, для IgM -35,2%, для IgG – 26,4%. Кроме того, во II группе выявлено значительное количество женщин с пониженными уровнями иммуноглобулинов. У 45% обследованных наблюдался дефицит по IgA, у 18,2% - по IgM, у 31,8% - по IgG, у 27,5% - по двум классам (IgA+IgM, IgA+IgG, IgM+IgG), у 4,5% - по трем классам. У беременных I группы иммунодефицита не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют о значительном влиянии качества атмосферного воздуха на клеточное и гуморальное звенья иммунитета беременных.

ИММУННЫЙ СТАТУС ЖЕНЩИН-ТАБАКОВОДОВ С ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ИММУНОМОДУЛЯЦИИ ТАКТИВИНОМ

К. А. Собуров, Н.Б. Тюмонбаева, Э.А Карымшакова

Институт горной физиологии НАН КР, Бишкек, Кыргызстан

Увеличение численности женщин, работающих в сельском хозяйстве, расширение диапазона их профессиональной деятельности делают актуальным изучение воздействия на организм профессиональных вредностей, среди которых особое место занимает табаководство. Выращивание и сбор табачного листа выполняются вручную. При этом зачастую имеет место необеспеченность надлежащих санитарно-гигиенических условий. Результаты проведенных исследований (Абдашимов К.А., 1981; Собуров К.А., 2001) свидетельствуют, что условия труда в табаководстве оказывает вредное влияние на состояние здоровья и специфические функции женского организма. У женщин табаководов учащаются многие виды гинекологической патологии (Фрипту В.Г., 1984). Накапливаются все больше сведений о ключевой роли иммунной системы в развитии многих патологических процессов. В связи с этим, актуальной становится проблема разработки подходов к объективной оценке иммунного статуса здорового и больного человека под воздействием вредных факторов. В настоящее время изучены некоторые аспекты специфических факторов защиты организма на стадиях табачного производства (Собуров К.А., Тюмонбаева Н.Б., 1998). У женщин, длительно работающих в сфере табаководства, выявлен дисбаланс иммунологических показателей и наблюдается существенная аллергия организма (Хусинов А.А. и др., 1984). Изучение иммунного статуса в условиях

табачного производства является проблемой и практической гинекологии, так как в этой отрасли занято до 90% женщин.

Целью работы явилось изучение нарушений иммунного статуса у женщин-табаководов с гинекологическими заболеваниями и его коррекция тактивинном.

Изучено состояние здоровья у 921 женщины не табаководов и у 1138 женщин-табаководов Бакай-Атинского и Манасского района (1050м над ур. м.). Основное внимание уделено изучению иммунологического статуса женщин с гинекологическими заболеваниями до- и после лечения тактивинном. При риске развития иммунодефицитного состояния, больным женщинам-табаководам назначали тактивин (100 мкг/мл подкожно, 5 дней). Характеристика иммунной системы проведена по тестам первого и второго уровней: определение в крови Т- и В-лимфоцитов и популяций Т-клеток (Т-хелперов и Т-супрессоров). Исследование фагоцитарной активности лейкоцитов проводили с культурой золотистого стафилококка. Определяли процент активных нейтрофилов с захваченными микробами (фагоцитарный индекс) и среднее число микробов поглощенных одной клеткой (фагоцитарное число). Оценку кислородзависимой бактерицидности проводили с помощью НСТ-теста, определяли количество диформаза положительных клеток и вычисляли индекс активации нейтрофилов, исследовали уровень циркулирующих иммунных комплексов, активность лизоцима и комплемента сыворотки крови.

У женщин-табаководов выявлена высокая гинекологическая заболеваемость (19,2%), занимающая второе место после болезней органов дыхания (24,2%). Среди выявленных заболеваний около 30% диагностированы впервые, что говорит о значительной степени заболеваемости у женщин табачного производства.

Нозологические формы	Частота (%%)	Структура к итогу
Воспалительные заболевания	45,2	59,7
Болезни шейки матки	16,89	22,0
Бесплодие	3,19	3,14
Нарушение менструального цикла	6,8	8,7
Миома	3,19	3,14
Осложнение беременности	7,3	8,8
Киста яичника	2,79	2,51
Другие заболевания	10,04	12,57
ВСЕГО	100	120,56

Во всех профессиональных группах ведущее место занимают заболевания воспалительного характера, затем болезни шейки матки, осложнения беременности и нарушения менструального цикла, миома и киста яичника. Часто встречается бесплодие. У большинства жителей табакосеющего региона иммунограмма указывает на относительно низкие показатели, в сравнении со здоровыми. Средние значения показателей составляли для Т-лимфоцитов – 46,3%, В-лимфоцитов – 15,9%, Т-хелперов – 22,4%, Т-супрессоров – 16,2%, комплемента – 45,0 ед., лизоцима 37,8% фагоцитарного индекса – 49,7%, фагоцитарного числа – 4,8, индекса активации нейтрофилов – 0,08, показателей активных нейтрофилов – 5,2% и циркулирующих иммунных комплексов – 92,6%. Дальнейший анализ проводили сопоставлением этих данных со средними региональными параметрами. Для первичной оценки иммунного статуса гинекологических больных женщин-табаководов условно выделили в группу риска (женщины с показателями нижней границе нормы). В результате выявлено, что у женщин-табаководов с гинекологическими заболеваниями развивается иммунодефицитное состояние, которое нуждается в дифференцированной коррекции. Результаты коррекции свидетельствуют о выраженном модулирующем действии тактивина на показатели клеточного иммунитета. При этом изменение показателей зависели от того состояния клеточного иммунитета, которое наблюдалось до введения препарата. Так, при снижении количества и функциональной активности Т-лимфоцитов, лечение тактивинном приводило к выраженному увеличению

этих показателей (с 36,3% до 48,4%). При этом видимо, происходило усиленное созревание Т-лимфоцитов. Как известно, накопление активированных Т-лимфоцитов с преимущественной функцией хелперных клеток, необходимо для генерации иммунологических реакций клеточного и гуморального типов. Так, до лечения количество хелперов было 14,5%, а после лечения возросло до 26%. Отмечалось некоторое увеличение количества В-лимфоцитов. Имело повышение активности сывороточного лизоцима (с 32,6% до 44,1%). Отмечено также улучшение фагоцитарной способности лейкоцитов. Число лейкоцитов, участвующих в процессе фагоцитоза, повысилось с 44,2% до 56,2%, увеличилось среднее число микробов, поглощенных одной клеткой. После лечения фагоцитарная активность гранулоцитов была также повышена. Уровень циркулирующих клеток до лечения составлял 111,2%, а после лечения нормализовался. Таким образом, коррекция иммунного статуса табуками у женщин-табаководов, вошедших в группу риска по иммунологической недостаточности, вызывает активацию иммунной системы и оказывает положительные действия на уровень гинекологической заболеваемости.

СОДЕРЖАНИЕ ПРО- И АНТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПОСЛЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОЙ СТРЕССОРНОЙ НАГРУЗКИ

Сотников С.В., Умрюхин П.Е., В.Л. Степанюк, Умрюхин А.Е.

ГУ НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина РАМН, Москва, Россия;

ММАим. И.М. Сеченова, Москва, Россия; МИЦ «Иммункулус», Москва, Россия

Среди механизмов эмоционального стресса в последнее время большее внимание уделяется участию иммунных факторов в процессах, обеспечивающих достижение полезного приспособительного результата и адаптацию индивида в условиях стрессорных нагрузок (Судаков К.В., 2003; Черешнев В.А., 1998). Известно, что нейроны и глиальные клетки синтезируют медиаторы иммунной природы и их рецепторы, а иммунокомпетентные клетки синтезируют нейропептиды и их рецепторы. Нейро-иммунные взаимодействия совместно реализуют и обеспечивают работу важнейших регуляторных систем организма.

Мы исследовали участие про- и противовоспалительных цитокинов интерлейкина 1 бета (ИЛ-1-бета), интерферона гамма (ИФН-гамма), фактора некроза опухоли (ФНО-альфа) и интерлейкина 4 (ИЛ-4) в механизмах иммобилизационного стресса. С помощью ИФА с использованием наборов для определения количественного определения цитокинов крыс “Bender Systems” определяли содержание указанных цитокинов в крови крыс через 1 час после окончания часовой стрессорной нагрузки крыс иммобилизацией с одновременным умеренным стохастическим электрокожным раздражением по порогу вокализации. Поведенческую активность крыс определяли в условиях покоя в тесте открытое поле и разделяли крыс на активных и пассивных.

Обнаружено, что содержание в крови ИЛ-4 у поведенчески пассивных крыс, подвергнутых стрессорной нагрузке по сравнению с его концентрацией в крови пассивных контрольных крыс было достоверно ниже. У активных крыс после стрессорной нагрузки содержание ИЛ-4 было выше по сравнению с пассивными животными.

У активных крыс, подвергнутых стрессорной нагрузке, содержание ФНО-альфа было достоверно выше по сравнению активными контрольными нестрессированными крысами. У поведенчески пассивных крыс выявлена противоположная особенность: у крыс, подвергнутых стрессорной нагрузке, содержание ФНО-альфа было ниже по сравнению с нестрессированными животными. При сравнении содержания ФНО-альфа в крови крыс с разной поведенческой активностью, подвергнутых стрессорной нагрузке, выявлено более высокое его содержание у крыс поведенчески активных по сравнению с пассивными животными. Содержание ИЛ-1-бета в крови активных и пассивных стрессированных крыс, было достоверно ниже чем у нестрессированных активных и пассивных животными.

В крови поведенчески активных подвергнутых стрессорной нагрузке крыс содержание ИФН-гамма было достоверно ниже по сравнению с его содержанием у активных нестрессированных животных. В тоже время у поведенчески пассивных крыс была выявлена обратная зависимость: у крыс, подвергнутых стрессорной нагрузке, концентрация ИФН-гамма была выше по сравнению с его содержанием у нестрессированных особей.

Таким образом, показано влияние стрессорной нагрузки крыс на содержание цитокинов в крови. Выявлены особенности изменений содержания цитокинов у крыс с различным характером двигательной активности в тесте открытого поля. У поведенчески активных и пассивных крыс, подвергнутых стрессорной нагрузке, обнаружены разнонаправленные изменения содержания цитокинов ФНО-альфа и ИФН-гамма. В тоже время изменения концентрации цитокинов ИЛ-1-бета и ИЛ-4 у поведенчески активных и пассивных животных, подвергнутых стрессорной нагрузке, имели однонаправленный характер по сравнению с нестрессированными. Полученные результаты служат лучшему пониманию участия цитокинов – в механизмах стрессорных реакций. Работа проведена при поддержке гранта РФФИ 07-04-01477.

УНИКАЛЬНОЕ СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ОПУХОЛЕВОГО АУТОАНТИГЕНА В23/НУКЛЕОФОЗМИНА

Стратиенко Н.В., Потапенко Н.А., Владимирова Н.М.

ИБХ им М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Нуклеофозмин (NPM), называемый также В23 – полифункциональный белок, включенный в широкий спектр процессов, контролирующих биогенез рибосом, трансформацию и пролиферацию клеток, стабильность генома и канцерогенез. У человека он экспрессируется в виде двух изоформ В23.1 и В23.2. Появились данные, что при ряде раковых и аутоиммунных заболеваний наблюдается образование аутоантител (а-АТ) к ядрышковым белкам: UBF (транскрипционному фактору РНК-полимеразы I), а также фибрилларину и нуклеофозмину – факторам сборки пре-рибосом. Аутоиммунный ответ к белку В23 обнаружен у больных гепатоклеточной карциномой, раком молочной железы и склеродермией. Выдвинуто предположение, что синтез а-АТ связан с особенностями трансформированных клеток и с появлением специфических для данных заболеваний структур аутоантигенов, которые подвергаются расщеплению специфической протеазой (гранзимом В) с образованием уникальных фрагментов, не наблюдаемых при других формах клеточной смерти [Ulanet et al., PNAS 2003]. Показано, что у больных гепатоклеточной карциномой и в клетках *Hep G2* выявляется белок В23 иной конформации, который имеет большую чувствительность к расщеплению гранзимом В, чем белок В23 в нормальной и цирроидной печени. Предполагается, что уникальная конформация белка В23 в опухолевых клетках печени связана с появлением укороченной формы белка, склонной к образованию специфических для опухолевых клеток олигомеров, устойчивых к обработке SDS.

Мы проанализировали структурное состояние нуклеофозмина в ряде опухолевых клеток человека (*HeLa* – карцинома шейки матки, *NGP* – нейробластома, *Hep G2* – гепатоклеточная карцинома, *OsA-CL* – остеосаркома, *Jurkat* – острая Т-клеточная лейкемия) и нормальных тканей мыши (печень, почки, легкие, сердце). Анализ иммуноблотов позволил выявить ряд существенных различий в состоянии белка: в противоположность опухолевым клеткам человека, содержание белка В23 в нормальных тканях мыши (печень, почки, легкое, сердце) было значительно ниже; SDS-устойчивые олигомерные формы нуклеофозмина, чувствительные к расщеплению гранзимом В, наблюдаемые в клетках гепатоклеточной карциномы, были детектированы нами также и в других опухолевых клетках человека и отсутствовали в нормальных тканях. Это может свидетельствовать об особых конформационных формах нуклеофозмина в опухолевых клетках, образование которых является общим признаком опухолей человека.

Для ответа на вопрос, действительно ли образование SDS-устойчивых олигомерных форм нуклеофозмина связано с появлением его укороченных форм в опухолевых клетках, мы провели структурный анализ белка B23 в клетках *HeLa*. Поскольку лизат клеток, так же как и лизат ядер, представляет собой многокомпонентную белковую смесь, возможность проведения структурных работ затруднена. Для проведения структурного анализа нуклеофозмина из клеток *HeLa* нами был разработан простой метод получения фракции растворимых ядерных белков, содержащей по данным масс-спектрометрического и иммуноцитохимического анализа нуклеофозмин. Были впервые определены N- и C-концевые аминокислотные последовательности нуклеофозмина в клетках *HeLa* и доказано существование изоформы B23.2. Согласно полученным данным N-концевая последовательность нуклеофозмина в клетках *HeLa* укорочена на 9 аминокислотных остатков, а N-концевой аминокислотный остаток блокирован ацетильной защитой. Таким образом, было впервые охарактеризовано структурное состояние белка, реально функционирующего в опухолевых клетках человека.

Полученные нами результаты и литературные данные свидетельствуют, что образование α -АТ может быть действительно связано с аномальным структурным состоянием нуклеофозмина в опухолевых клетках. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 06-04-48388 и гранта «Фундаментальные науки – медицине, 2008».

ИММУННОФИЗИОЛОГИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ ПОВЕДЕНИЯ

Судаков К.В.

ГУ НИИ нормальной физиологии имени П.К.Анохина РАМН, Москва, Россия

В 2002 г. мы сформулировали теоретические представления о том, что иммунные механизмы, наряду с вегетативными и гормональными механизмами, являются звеньями функциональных систем организма, обеспечивающих своей саморегуляторной деятельностью оптимальный для жизнедеятельности уровень различных гомеостатических показателей, а также поведенческих реакций.

Было показано, что антигастриновые иммуноглобулины при их введении в боковые желудочки головного мозга блокируют пищевую мотивацию у кроликов при электрическом раздражении «центра голода» латерального гипоталамуса. При этом также блокируются реакции отдельных нейронов дорсального гиппокампа и сенсомоторной коры микроионофоретическое подведение к ним пентагастрина. После интрацеребровентрикулярного введения интерлейкина 1-бета ($IL-1\beta$) выявлено изменение порога раздражения «центра страха» вентромедиального гипоталамуса, вызывающего у крыс оборонительное поведение: вокализацию, активное избегание и груминг. В первые 30 минут после введения $IL-1\beta$ пороговая сила раздражения снижалась, а через 90 минут увеличивалась. В первые 30 минут после введения $IL-1\beta$ отмечено снижение реакции вокализации, активного избегания и груминга.

В системной организации физиологических функций особо важная роль принадлежит аутоантителам, которые постоянно контролируют внутреннюю среду организма, содержание в ней продуктов метаболизма, особенно белковой и липопротеиновой природы, выполняя своеобразные «санитарные функции». Специальному анализу нами подвергнуто участие аутоиммунных факторов в системных механизмах эмоционального стресса. Согласно теории функциональных систем эмоциональный стресс формируется в условиях конфликтных ситуаций, в которых субъекты кратковременно или длительно лишены возможности достигать полезных для них результатов, т.е. удовлетворять свои ведущие потребности. Конфликтные ситуации моделировали у крыс при обездвиживании их на деревянной платформе. Животных предварительно тестировали по характеру поведения в открытом поле. Были выделены крысы активные и пассивные по поведению в открытом поле. Активные крысы характеризовались устойчивостью к стрессорным нагрузкам. Пассивные крысы были предрасположенными к эмоциональному стрессу.

Крыс активных и пассивных иммунизировали конъюгатами серотонина (5-ОТ), дофамина (ДА), глутамата (ГЛУ) с сывороточным альбумином. Содержание антител к нейромедиаторам (5-ОТ, ДА, ГЛУ) в крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Содержание ДА и НА в дорсальном гиппокампе определяли методом микродиализа.

Исходно у крыс, активных и пассивных по поведению в открытом поле, содержание в крови аутоантител к 5-ОТ, ДА и ГЛУ не различалось. После стрессорной нагрузки у активных крыс в крови выявлено более высокое содержание аутоантител к ДА по сравнению с пассивными крысами, а у пассивных крыс – более высокое содержание аутоантител к ГЛУ и 5-ОТ. После иммунизации конъюгатом ДА у крыс активных и пассивных в крови выявлен высокий титр антител к ДА. Микродиализные исследования показали, что в исходном состоянии после иммунизации содержание ДА в дорсальном гиппокампе у активных крыс было выше, чем у пассивных. После однотипных стрессорных воздействий при иммобилизации крыс содержание ДА и НА в дорсальном гиппокампе достоверно повышалось у иммунизированных конъюгатом ДА у активных крыс по сравнению с крысами пассивными. У крыс, иммунизированных конъюгатом ГЛУ, содержание ГЛУ в дорсальном гиппокампе после иммобилизационной нагрузки было выше у активных крыс по сравнению с крысами пассивными.

Исходно у активных крыс по сравнению с пассивными крысами в крови обнаружено более высокое содержание провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IF- γ , TNF. Содержание противовоспалительного цитокина IL-4 у активных крыс по сравнению с пассивными было ниже. После стрессорной нагрузки у активных крыс в крови обнаружено более высокое содержание TNF по сравнению с пассивными животными.

Микроионофоретическое подведение IL-2 изменяло активационные реакции нейронов дорсального гиппокампа к НА на тормозные. После микроионофоретического подведения IL-2 реакции дорсального гиппокампа у активных крыс усиливались, а у пассивных – уменьшались. Выявлены морфологические различия иммунногенных структур тонкой кишки у активных и пассивных крыс.

Таким образом, крысы с различной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу характеризовались различными иммунными механизмами исходно и после однотипных стрессорных нагрузок.

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ – ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ЭНДОГЕННОЙ МИШЕНИ ВЛИЯНИЯ СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ АНТИТЕЛ

Тарасов С.А., Машкина М.В., Акиндинова Ю.О., Дугина Ю.Л., Сергеева С.А., Эпштейн О.И., Р.Н. van der Meide*, Y.J.M. van den Hout*

ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг», Москва, Россия. U-CyTech biosciences, Утрехт, Нидерланды.

Иммунная система человека и животных в нормальных физиологических условиях постоянно вырабатывает антитела к молекулам собственного организма, так называемые естественные Аутоантитела (е-ААТ). Наряду с гормонами и нейромедиаторами е-ААТ являются биологически активными регуляторами, участвующими в поддержании молекулярного гомеостаза организма. Несколькими группами исследователей было доказано наличие е-ААТ к цитокинам. Показано, что е-ААТ к цитокинам могут встречаться в крови здоровых и больных людей, которым никогда не проводилась терапия экзогенными цитокинами. Имеются данные об обнаружении е-ААТ к α -, β - и γ -ИФН, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ГМ-КСФ и α - и β -ФНО (Bendtsen. K., Hansen M.B. et al., 1994; Ross C., Hansen M.B. et al., 1990 и др.). Обнаружено, что количество е-ААТ к γ -ИФН значительно выше в крови у пациентов, страдающих инфекционными или аутоиммунными заболеваниями, чем у здоровых, причем уровень е-ААТ к γ -ИФН у здоровых людей не зависит от пола и возраста (Caruso A., Bonfanti C, 1990). В связи с вышесказанным е-ААТ являются перспективной фармакологической мишенью. Существует мнение, что новый класс ле-

карственных средств на основе сверхмалых доз (СМД) антител может реализовать свои биологические эффекты через систему е-ААТ. Влияние на них СМД антител ранее изучалось в исследованиях профессора Мягковой М.А. и академика РАМН Штарка М.Б.

Цель настоящего исследования – оценить влияние СМД антител к γ -ИФН человека на уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови человека.

Пациенты. Измеряли уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови у 116 здоровых добровольцев в возрасте от 19 до 52 лет и у 20 детей (средний возраст – 5,2 года), поступивших в стационар с диагнозом ветряная оспа (1-2 сутки от начала заболевания, температура тела не менее 37,0 °С), 10 из которых получали в качестве терапии СМД антител к γ -ИФН человека (анаферон детский, 3-8 таблеток, курс 5-7 сут), а остальные 10 получали плацебо. Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Определение уровня е-ААТ к γ -ИФН проводили в динамике: до начала лечения и на 8 день приема препарата. Эффективность терапии оценивали по длительности основных клинических симптомов заболевания: лихорадки, появления новых высыпаний и зуда.

Методы. Уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови человека измеряли с использованием твердофазных ИФА наборов, разработанных компанией U-CyTech biosciences (Нидерланды). Использовали с иммобилизованным рекомбинантным γ -ИФН человека. С целью повышения чувствительности и специфичности ИФА при разработке было проведена следующая модификация. Для того, чтобы сохранить эпитопную специфичность рекомбинантного γ -ИФН человека, его в комплексе с биотином адсорбировали на планшеты, покрытые стрептовидином. С целью снижения неспецифического связывания, образцы сыворотки крови предварительно инкубировали с бычьим сывороточным альбумином. Для подтверждения специфичности естественных аутоантител к γ -ИФН для каждого образца сыворотки крови использовался свой отрицательный контроль (лунки планшета, не содержащие рекомбинантный γ -ИФН человека). Для построения стандартной калибровочной кривой использовали мышинные моноклональные антитела к γ -ИФН человека. Концентрацию е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови человека выражали в условных единицах (УЕ/мл).

Результаты. Уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови у 37 здоровых добровольцев в среднем составил 27,5 УЕ/мл. Исходный уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови пациентов с ветряной оспой на момент включения в исследование был в среднем в 2 раза выше, чем у здоровых добровольцев и составлял 40,9 УЕ/мл. К 8 суткам уровень е-ААТ к γ -ИФН у пациентов группы СМД антител к γ -ИФН человека снизился у 60% пациентов и составлял в среднем 27,5 УЕ/мл, а в группе плацебо практически не изменился и составил 38,5 УЕ/мл (снижение зафиксировано только у 30% пациентов). В результате оценки клинической эффективности было показано статистически значимое снижение длительности основных клинических симптомов (лихорадки, появления новых высыпаний и зуда) в среднем на 1-2 сут. у пациентов группы СМД антител к γ -ИФН человека по сравнению с группой плацебо. Обнаружена зависимость изменения концентрации е-ААТ к γ -ИФН человека от длительности лихорадки: коэффициент корреляции Спирмена составил +0,43.

Таким образом, в проведенном исследовании было выявлено, что уровень е-ААТ к γ -ИФН в сыворотке крови человека повышался при вирусной инфекции. Изменение уровня е-ААТ к γ -ИФН коррелирует с длительностью симптомов вирусной инфекции. СМД антител к γ -ИФН человека влияют на уровень е-ААТ к γ -ИФН, способствуя их нормализации и более быстрому выздоровлению пациентов. Влияние СМД антител на е-ААТ может быть одним из механизмов действия СМД антител *in vivo*. Оценка уровня е-ААТ может служить критерием эффективности терапии заболеваний лекарственными средствами, содержащими СМД антител. Проведенное исследование было в некотором роде пилотным, полученные результаты должны быть подтверждены на большей выборке пациентов и это является целью последующих экспериментов.

НЕЙРОИММУННЫЕ АСПЕКТЫ ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРИСТУПОВ

Фейгина А.А., Лусникова И.В., Алферова В.В., Гехт А.Б.

Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия

Проблема эпилепсии (ЭПЛ) является одной из ведущих в неврологии. Распространенность ЭПЛ, связанной с перенесенным ишемическим инсультом (ИИ) составляет от 4 до 14%. Наиболее высоких цифр она достигает в старшей возрастной группе, где ИИ является причиной 50% случаев заболевания ЭПЛ. В последние годы различные аспекты ЭПЛ постинсультного генеза интенсивно изучались как отечественными, так и зарубежными исследователями, однако проблема остается изученной не до конца. Около полувека назад В.Ф.Семенов предложил гипотезу о важной роли аутоиммунных нарушений в генезе ЭПЛ (Семенов В.Ф с соавт., 1969). В 1980-х годах эти представления получили дальнейшее развитие (С.Ф. Семенов, К.А.Семенова, 1984). В частности, была подтверждена взаимосвязь между изменениями гуморального иммунитета и патогенезом ЭПЛ (Мухаринская, Антадзе и др., 1980). В настоящее время иммунологические аспекты ЭПЛ широко дискутируются (Aarli A.1992,2000; Kanimoto H, 2000; Eriksson K.,2001; Afeltra A, Amogoso A., 2002). В то же время до сих пор не проводилось исследований, направленных на изучение иммунореактивности у больных ЭПЛ постинсультного генеза.

Целью явилось изучение нейроиммунологических особенностей у больных с эпилептическими приступами (ЭП), перенесших ИИ полушарной локализации.

Материалы и методы: Совместно с сотрудниками научного центра «Иммунку-лус» было обследовано 117 больных, находившихся на лечении в клинике нервных болезней РГМУ на базе ГКБ №1 им.Н.И.Пирогова. В Группу-1 вошли 38 больных (18 женщин и 20 мужчин; возраст 42-92 года) с постинсультной ЭПЛ (N=18) и с единственным ЭП, впервые развившимся (N=20) после перенесенного ИИ, с локализацией ишемического очага в полушариях головного мозга. Давность ИИ варьировала от 6 дней у больных с "ранними" ЭП до 3 лет у больных с "поздними" ЭПЛ и ЭП. Локализация ИИ: в системе левой внутренней сонной артерии - у 15 больных, в системе правой внутренней сонной артерии – у 12, у 11 - в обеих каротидных системах. Длительность ЭПЛ варьировала от 3 мес до 10 лет (в среднем - 3,6), с различной частотой и общим количеством приступов. В Группу-2 вошли 29 больных (9 женщин и 20 мужчин) с ИИ без эпилептических приступов, основные характеристики которого (локализация, тяжесть неврологического дефицита, давность инсульта) были сопоставимы с таковыми в Группе-1 (возраст 41-70 лет); локализация ИИ: ЛВСА (N=18), ПВСА (N=11). Группу-3 составили 50 больных (19 мужчин и 31 женщина) с локализационно-обусловленной ЭПЛ височной доли (возраст 16-57 лет; длительность ЭПЛ – от нескольких месяцев до 32 лет, в среднем 12,5). Симптоматическая парциальная ЭПЛ была диагностирована у 39 больных, локализационно-обусловленная криптогенная ЭПЛ - у 11. У 31 пациента был поставлен диагноз медио-базальной ЭПЛ, у 19 (38%) - неокортикальной ЭПЛ. У всех пациентов количественно определяли иммунореактивности нейротропных аутоантител класса IgG (НААТ) к белкам нервной ткани S100b, GFAP, МР-65, ФРН с помощью метода ЭЛИ-Н-Тест, на основе стандартных процедур твердофазного ИФА. Контролем служили 119 образцов сыворотки крови клинически здоровых лиц (средний возраст – 30,5 лет).

Результаты и обсуждение. Мы показали, что уровни НААТ к белкам S100b, GFAP, МР-65, ФРН были самыми высокими в группе больных с ЭП постинсультного генеза. Они достоверно отличались от уровней НААТ в группе контроля и в группах больных с ИИ без ЭП и с парциальной "височной" ЭПЛ не связанной с ИИ.

Средние значения НААТ	Группа-1 ЭПЛ после ИИ	Группа-2 (ИИ без ЭПЛ)	ЭПЛ без ИИ	Контроль
S100b(AT1)	137,4	106,5	103,5	100,6

S100b(AT2)	120,7	103,4	92,5	104,0
GFAP(AT1)	135,7	105,1	116,0	103,0
GFAP(AT2)	143,4	105,2	113,0	107,0
MP-65(AT1)	109,3	100,7	83,4	108,2
MP-65(AT2)	137,9	104,4	80,3	107,7
NGF(AT1)	130,5	105,7	97,6	106,5
NGF(AT2)	128,5	105,5	79,6	102,6

Полученные результаты иллюстрируют участие иммунной системы с процессах эпилептогенеза, однако, роль ее остается не вполне понятна. Сравнение уровней иммунореактивности в Группе-1 с Группой-2 (ИИ без последующих ЭП) дает основания предполагать, что более высокие показатели НААТ связаны с развитием эпилептических приступов. Однако у больных с ЭПЛ не связанной с ИИ было показано некоторое снижение показателей иммунореактивности (ниже, чем у здоровых). Возможно, такое снижение показателей связано с длительным и интенсивным приемом противоэпилептических препаратов в группе.

KIR-ГЕНЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ И ИХ HLA-ЛИГАНДЫ

Е.Г. Хамаганова

ГУ Гематологический научный центр РАМН, Москва, Россия

Естественные киллерные клетки (ЕКК) – эффекторные клетки врожденного иммунитета, способные лизировать клетки-мишени без предварительного контакта и развития реакции типа иммунного ответа. Ответ ЕКК на измененные клетки регулируется взаимодействием между KIR (Killer Ig-like Receptors) рецепторами ЕКК и молекулами гистосовместимости (у человека HLA) класса I. С KIR-HLA взаимодействиями связана толерантность ЕКК к собственным здоровым клеткам и элиминация инфицированных и трансформированных клетки, поскольку у них меняется экспрессия HLA-молекул.

KIR – члены суперсемейства иммуноглобулиновых рецепторов, гены которых расположены на 19q хромосоме. Их названия отражают структурные характеристики. Так, KIR с двумя Ig экстрацеллюлярными доменами и коротким интрацитоплазматическим концом называются KIR2DS, а с тремя Ig экстрацеллюлярными доменами и длинным интрацитоплазматическим концом – KIR3DL. Воздействие на KIR2DS ведет к активации, а на KIR2DL или KIR3DL к ингибции ЕКК. KIR2DL1 распознают молекулы гистосовместимости локуса HLA-C, которые несут лизин в позиции 80 тяжелой цепи, относящиеся к так называемой группе HLA-C2 (HLA-C*02/04/05/06/15/1602/17). KIR2DL2/3 распознают все остальные молекулы HLA-C, у них в позиции 80 находится аргинин, эта группа молекул HLA-C1 (HLA-C*01/03/07/08/12/13/14/1601). Лигандами для KIR3DL1 являются молекулы HLA-Bw4, к которым относятся около 1/3 аллелей HLA-B. KIR3DL2 связывают молекулы локуса HLA-A - A3 или A11. Лиганды активационных KIR менее изучены. Баланс сигналов, получаемых через активационные и ингибирующие рецепторы ЕКК, регулирует их эффекторные функции [Gardiner;2007].

KIR свойственно аллельное и гаплотипическое разнообразие. Как и HLA-гены каждый KIR-ген может быть представлен разнообразным количеством вариантов (от 4 до 19 аллелей), однако в отличие от HLA-системы число KIR-генов у отдельного человека варьирует от 9 до 16. Только 3 KIR-гена (так называемые «рамочные») гены присутствуют на каждой хромосоме (3DL3, 2DL4, 3DL2). KIR-гены могут быть представлены на одной хромосоме во множестве комбинаций, что ведет к огромному разнообразию KIR гаплотипов и соответственно генотипов.

Для функционального взаимодействия и KIR и его HLA-лиганд должны быть экспрессированы у данного индивида. Поскольку гены KIR располагаются на 19q хромосоме, а гены HLA – на 6p хромосоме, они наследуются независимо, что сопровождается значительным разнообразием KIR – HLA комбинаций. Различные этнические группы имеют разные частоты KIR-генов и генотипов, и комбинаций KIR – HLA-лиганд. Вероятно, что эти популяционные отличия отражают различное давление факторов отбора в разных географических условиях. С разнообразием KIR-генотипов и комбинаций KIR – HLA-лиганд может быть ассоциирована предрасположенность (или резистентность) к развитию некоторых заболеваний и исход трансплантаций органов и тканей. Выявлены ассоциации некоторых аутоиммунных заболеваний с KIR-генами [Parham e.a., 2005]. Таким образом, данные по распределению частот KIR-генов, генотипов и комбинаций KIR – HLA в данной популяции имеет практическую ценность.

Цель настоящего исследования установить частоты KIR-генов, KIR-генотипов и KIR – HLA комбинаций в нашей популяции.

Материалы и методы. Исследовано 53 донора компонентов крови ГУ ГНЦ РАМН. Геномную ДНК получали из клеток периферической крови методом высаливания и доводили до концентрации 50-150 нг/мкл. KIR-генотипирование полученной ДНК проводили методом ПЦР (полимеразной цепной реакции) с использованием PEL-FREEZ KIR Genotyping SSP kit (дистрибьютор “Биохиммак”, Москва). Как рекомендовано производителем, условия ПЦР были следующие: начальная денатурация ДНК - 95°C в течение 60 с, затем 30 циклов: 94°C в течение 20 с, 63 °C - 90 с и 72°C – 90 с. Продукты амплификации анализировали после электрофореза в окрашенном этидиум бромидом 2% агарозном геле при ультрафиолетовом излучении. HLA-A и –B типирование проводили стандартным микролимфоцитотоксическим методом, специфичности локуса HLA-C определяли ПЦР с сиквенс специфическими праймерами (специфичности HLA-C*12-18 серологически не выявляются). Частота KIR генов и генотипов определялась прямым подсчетом. Кроме того, проведен подсчет частот комбинаций KIR – HLA-лиганд (KIR2DL1 – группа HLA-C2, KIR2DL2/3 - группа HLA-C1, KIR3DL1 – HLA-Bw4, KIR3DL2 - HLA-A3 или HLA-A11).

Результаты и обсуждение. Так называемые «рамочные» KIR-гены (KIR3DL2, KIR3DL3 и KIR2DL4) присутствовали у всех исследованных доноров. Также все образцы ДНК содержали псевдоген 3DP1, псевдоген 2DP1 выявлен в 98,1%.

Среди генов ингибиторных KIR у наших доноров наиболее высока частота KIR2DL1 – 98,1%. KIR3DL1 и KIR2DL3 выявлены в 88,7% образцов, KIR2DL2 – в 47,2%. Вариант гена KIR2DL5A встречался у 30,2% доноров, 2DL5B – у 17%.

Среди активационных KIR-генов наиболее частотен ген KIR2DS4. Он встречается в двух разных вариантах: вариант KIR2DS4*001/002, кодирующий экспрессируемый активационный рецептор, и частично делетированный вариант KIR2DS4*003-006, не сопровождающийся экспрессией [Hsu e.a., 2002]. У наших доноров, подобно представителям других европеоидных популяций, второй (неэкспрессируемый) вариант встречался чаще (73,6%), чем первый (35,8%). Примерно с такой же частотой этот вариант присутствует в польской (73,6%) [Luszczek e.a., 2006] и чешской (74%) [Pavlova e.a., 2008] популяциях, хотя у них этот вариант более редок, чем у французов и ирландцев (~80%) [Hsu e.a., 2002]. KIR2DS1 встречался в 35,8% образцов ДНК наших доноров, 2DS2 – в 47,2%, 2DS3 – в 32,1%, 3DS1 – в 30,2%. Наиболее редко у наших доноров выявлялся KIR2DS5 (26,4%).

53 образца ДНК наших доноров содержали 27 различных генотипов. Подобно другим европеоидным популяциям среди них наиболее частотным был генотип с одним активационным геном KIR2DS4 - 2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 2DP1, 3DP1. Этот генотип определялся у 34% наших доноров и соответствовал двум так называемым AA-гаплотипам, т.е. гомозиготности по A-гаплотипу (A-гаплотипом называется гаплотип с одним активационным KIR-геном - 2DS4, B-гаплотипом – все прочие гап-

типы, у которых присутствует более чем один активационный ген KIR). У европеоидов AA-генотип встречается примерно у 1/3 населения [Uhrberg et al., 2002]. Прочие исследованные образцы донорской ДНК имели более одного активационного KIR-гена и, следовательно, могли считаться гомозиготами по В-гаплотипу или АВ-гетерозиготами. Следовательно, у значительного количества представителей нашей популяции вообще отсутствует экспрессия активационных генов KIR.

Исследование частоты комбинаций KIR–HLA лиганд у наших доноров показало, что всеми четырьмя комбинациями обладали 5,6% образцов ДНК, тремя комбинациями – 35,8 %, двумя – 47,2%, одной – 11,3%. Большинство доноров (83%) несло 2-3 KIR–HLA комбинации, а максимальное (4) или минимальное (1) количество комбинаций встречалось реже. Не выявлено ни одного образца, у которого отсутствовала хотя бы одна пара KIR–HLA лиганд, хотя теоретически это возможно.

Можно предположить, что баланс между KIR и их HLA-лигандами играет существенную роль. Вероятно, преимущество имеют индивиды со средним (2-3) количеством комбинаций KIR–HLA лиганд. В случае если у индивида имеются все 4 комбинации KIR–HLA лиганд, множественные ингибиторные сигналы, опосредованные взаимодействием KIR–HLA, могут блокировать эффекторную функцию ЕКК. Это делает носителя максимального количества комбинаций KIR–HLA-лиганд менее устойчивым к заболеванию, связанного с данным патогеном. Напротив, если у индивида имеется только одна пара KIR–HLA-лиганд, ингибиторный сигнал этого взаимодействия может быть недостаточен для поддержания толерантности ЕКК против собственных клеток, что может вести к развитию аутоиммунных болезней.

В результате проведенного исследования впервые получены данные о частотах KIR-генов у представителей нашей популяции, которые в целом оказались соответствующими частотам этих генов у других европеоидных популяций. Выявлено 27 различных генотипов, преобладающим оказался генотип с одним активационным геном – KIR2DS4, который чаще встречался в частично делетированном (неэкспрессирующемся) варианте. В нашей популяции наиболее часто (в 83%) встречается среднее количество комбинаций KIR–HLA-лиганд. Вероятно, что среднее количество пар KIR–HLA более благоприятно в эволюционном плане, чем носительство минимального или максимального числа комбинаций. Полученные данные предварительны и будут уточняться на более обширном популяционном материале, однако они могут быть полезны в качестве группы сравнения при исследовании роли генов KIR при аутоиммунных заболеваниях, вирусных инфекциях, опухолях и при трансплантации органов и тканей.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СИНДРОМ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СОВРЕМЕННОГО ПРОТОКОЛА ИММУНОГЕНОМОНИТОРИНГА ПРИ ИНТРАКРАНИАЛЬНОМ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ

Н.Е. Черепяхина³, А.Ю. Шубенина², Е. Matsuura⁴, А.О. Санаев¹, С.В. Сучков^{1,2}

¹ММА им. И.М. Сеченова, Москва; ²МГМСУ, Москва, Россия; ³ФГУЗ КБ №85 ФМБА России, Москва;

⁴Department of Cell Chemistry, Okayama University, Okayama, Japan

Развитие синдрома постинфекционного вторичного иммунодефицита (СПИВИД) и постинфекционного аутоиммунного синдрома сопровождается практически любой инфекционный процесс (ПИФАС). Интракраниальные инфекционно-воспалительные процессы (ИКИВП) не являются исключением, причём развитие аутоиммунитета в данном случае является одним из условий прогрессии патологии. Особенно неблагоприятным является сочетание иммунодефицита и аутоиммунного синдрома (постинфекционный аутоиммунный синдром (ПИФАС), ассоциированный с вторичным иммунодефицитом (СПИВИДАС)). Впервые в комплексных исследованиях совокупных параметров иммунного статуса у таких пациентов продемонстрированы: (а) состояние иммунологической реактивности у больных с ИКИВП, ассоциированного с тем или иным вариантом клинико-иммунологического синдрома (СПИВИД, ПИФАС или СПИВИДАС); (б) воз-

возможность прогнозирования течения аутоиммунного процесса и развития его осложнений; (в) оценка степени рисков прогрессирования клинической картины при доминировании того или иного варианта клинко-иммунологического синдрома. Эти данные в сочетании с клиническими наблюдениями составляют основу для разработки современного протокола клинко-иммунологического мониторинга и иммунореабилитации указанной категории больных.

ХРОНИЧЕСКИЙ ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС И АССОЦИИРОВАННАЯ (СИНДРОМАЛЬНАЯ) ИММУНОПАТОЛОГИЯ: ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ

**Н.Е. Черепяхина⁴, А.Ю. Шубенина³, Е. Elbeik⁵, Д.В. Шабанов³,
К.А. Ахмедилова⁶, Третьяк Е.Б.⁷, С.В. Сучков^{1,2,3}**

¹ММА им. И.М. Сеченова, Москва; ²МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва; ³МГМСУ, Москва; ⁴ФГУЗ КБ №85 ФМБА, Москва; ⁵Lab of Microbiology, Univ. of California at San Francisco, San Francisco, CA, USA; ⁶РГМУ, Москва, Россия; ⁷Клиническая больница №86 ФМБА, Москва, Россия

В структуре инфекционной патологии отмечается рост доли хронических и хронически-рецидивирующих заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами и/или возбудителями с атипичными биологическими свойствами, в частности, с множественной резистентностью к антибактериальным препаратам. Одновременно с этим и как следствие этого, среди пациентов с хроническими и рецидивирующими заболеваниями инфекционной природы наблюдаются не только снижение общего уровня иммунологической реактивности (например, формирование синдрома постинфекционного вторичного иммунодефицита - СПИВИД), но и неадекватные формы реакции со стороны иммунитета на течение инфекционного процесса (например, постинфекционный аутоиммунный синдром - ПИФАС) и постинфекционный аутоиммунный синдром в сочетании с вторичным иммунодефицитом (СПИВИДАС). Поэтому понять, является ли формирующаяся у пациента картина иммунопатологии следствием инфекционного заболевания или же причиной хронизации инфекционного процесса, достаточно сложно.

Рядом авторов установлено (Сучков С.В. и др., 2004, 2007), что для хронических и хронически-рецидивирующих инфекционных заболеваний характерно развитие вторичной (синдромальной) иммунопатологии, в значительной степени определяющей степень прогрессирования и хронизации основного заболевания, а также риск развития осложнений. В структуре, ассоциированной с основным заболеванием иммунопатологии встречаются, как минимум, три клинко-иммунологических синдрома, а именно, СПИВИД 59% случаев, из которых 66% приходится на хронический пиелонефрит (ХПНФ) и 34% - на интракраниальные инфекционно-воспалительные заболевания (ИКИВП), ПИФАС 12% случаев, из которых 93% приходится на ХПНФ и 7% - на ИКИВП и СПИВИДАС 29% случаев, из которых 86% приходится на ХПНФ и 14% - на ИКИВП. У 7% больных, из которых 75% с ХПНФ и 25% с ИКИВП, признаки иммунопатологии не найдены. Таким образом, доминирующей моносиндромальной формой иммунопатологии у больных с ХПНФ и ИКИВП является СПИВИД. В ряде случаев у больных с ХПНФ и ИКИВП наблюдается картина другого клинко-иммунологического синдрома, отражающего аутоиммунную агрессию (ПИФАС), а у некоторых пациентов – сочетанной картины СПИВИД и ПИФАС, что приводит к бисиндромальной форме иммунопатологии, получившей название СПИВИДАС.

Особенно интересно то, что картина аутоиммунного синдрома с примерно одинаковой частотой (12% и 13% случаев, соответственно) встречается как в изолированном (моносиндромальном) варианте (ПИФАС), так и в сочетанной (бисиндромальной) форме (СПИВИДАС), определяя, в конечном счете, не столько этиотропные составляющие терапевтических протоколов, сколько ассортимент патогенетически ориентированных иммунотропных препаратов, учитывающих в случае ПИФАС как патогномичный фактор аутоагрессию в развитии заболевания, а в случае СПИВИДАС – сразу два патог-

номоничных фактора - аутоагрессию и вторичный иммунодефицит (ВИД), или патоиммунный тандем как бисиндромальную причину прогрессирования иммунопатологии с хронизацией инфекционного процесса.

По итогам многолетних исследований ряда отечественных и зарубежных авторов для ХПНФ, ИКИВП и других форм хронических и хронически-рецидивирующих инфекционных заболеваний установлены три взаимосвязанных между собой магистральных пути нарушений иммунного гомеостаза, способствующих хронизации инфекционно-воспалительного процесса, а именно:

- (1) аномалии наследственной ветви антиинфекционного иммунитета;
- (2) дефект эффекторных звеньев адаптивного иммунитета;
- (3) нарушения в системе межклеточной регуляции, контролируемой сетью иммуномедиаторов и клетками, наделенными иммунорегуляторными свойствами и способными выполнять функцию “мостика” между механизмами наследственного и адаптивного иммунитета, например, дендритные клетки (ДК) или клетками с наличием на своей поверхности костимуляторных молекул (Fischer H.G. и др., 2001; Pashenkov M. и др., 2002; Figdor C.G. и др., 2003; Castellano G. и др., 2004; Ferlazzo G. И др., 2004; Granucci F. и др., 2004; Lauvau G. и др., 2004).

При формировании того или иного клинико-иммунологического синдрома при хронизации инфекционно-воспалительного процесса можно выявить некую общую последовательность событий, затрагивающих обе ветви (наследственную и адаптивную) иммунитета, но отличающихся по внутренней архитектонике в каждом из трех вариантов синдромальной иммунопатологии и, соответственно, демонстрирующих критериальную значимость. Так, при развитии СПИВИД, ассоциированных с основной нозологической единицей (ХПНФ или ИКИВП), в числе выявленных нами иммунологических сдвигов, имеющих критериальный характер, доминируют:

(а) в составе наследственной ветви иммунитета - подавление функций компонентов системы комплемента, угнетение механизмов фагоцитоза и базовых механизмов ЕЦТ, снижение удельного веса ДК в сочетании с тенденцией к положительной динамике в ходе прогрессии заболевания серологических маркеров воспаления;

(б) в составе адаптивной ветви иммунитета – угнетение функций Т-клеточного и В-клеточного (с относительным ростом продукции антиинфекционных аутоАТ IgG- и IgM-изотипов) звеньев иммунитета с формированием диспропорций в составе цитокинового спектра крови (за счет преимущественного снижения удельного веса основных провоспалительных цитокинов).

При развитии ПИФАС доминируют:

(а) в составе наследственной ветви иммунитета – активация факторов системы комплемента, формирование диспропорций в механизмах фагоцитоза и ЕЦТ в сочетании с ростом удельного веса ДК и тенденцией к положительной динамике в ходе прогрессии заболевания серологических маркеров аутоиммунного воспаления;

(б) в составе адаптивной ветви иммунитета – выраженная активация Т-клеточного звена иммунитета в сочетании с гиперфункцией (в результате гиперстимуляции) В-клеточного звена и доминированием секреции провоспалительных над противовоспалительными цитокинами.

При развитии комбинированных форм СПИВИДАС доминируют:

(а) в составе наследственной ветви иммунитета – активация комплемента на фоне диспропорций в составе классического и альтернативного путей активации системы комплемента в целом, дефицит отдельных функций фагоцитарной системы и ЕЦТ на фоне диспропорций в механизмах фагоцитоза и цитотоксичности в целом, выраженный рост удельного веса ДК в сочетании с тенденцией к положительной динамике в ходе прогрессии заболевания маркеров аутоиммунного воспаления;

(б) в составе адаптивной ветви иммунитета – ограниченная активация Т-клеточного звена иммунитета (с формированием диспропорций среди иммунорегуляторных клеток)

в сочетании с ограниченной гиперфункцией (умеренной функциональной гиперстимуляцией В-клеточного звена при отсутствии сдвигов в субпопуляционной архитектонике В-лимфоцитов) гуморальных механизмов иммунитета и выраженными диспропорциями в составе цитокинового спектра крови.

Все три вышеуказанных синдрома требуют дифференцированного подхода к выбору лечебно-реабилитационных мероприятий и соответствующему мониторингу пациента в ходе лечения, а именно:

◆ на фоне СПИВИД - проведение традиционной (комбинированной иммуностимулирующей и противовирусной) терапии в фазе активной инфекции;

◆ на фоне ПИФАС - осуществление лечебных эффектов иммуносупрессии, иммунорекоррекции и иммунореабилитации по мере прогрессирования;

◆ на фоне СПИВИДАС - разработка и внедрение в практику более совершенных протоколов антимишневой терапии с использованием целеуказанной (выборочной) иммунофармакокоррекции, предусматривающей:

(а) восстановление эффекторных функций наследственной и адаптивной ветвей иммунитета (т.е., минимизацию масштабов иммунодефицита);

(б) ликвидацию диспропорций в составе регуляторных и эффекторных звеньев, преимущественно, адаптивного звена иммунитета и подавление аутоагрессии;

(в) реабилитацию функций иммунного надзора со стороны иммунорегуляторных инструментов адаптивной ветви иммунитета.

Эти обстоятельства диктуют необходимость дальнейшего исследования связей между конкретными параметрами иммунной функции и корреляцией этих параметров с клинической картиной основного заболевания и соответствующих осложнений, а их тщательный анализ мог бы стать важным этапом на пути к созданию концептуальной модели иммунопатогенеза хронизации инфекционно-воспалительного заболевания, предусматривающей возможность адекватного выбора патогенетически обоснованной схемы лечебно-диагностических мер у больных с данной категории.

РОЛЬ И МЕСТО ПАТОЛОГИИ АДАПТИВНОЙ ВЕТВИ ИММУНИТЕТА В ХРОНИЗАЦИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ И ФОРМИРОВАНИИ АССОЦИИРОВАННОЙ С ЗАБОЛЕВАНИЕМ ФОРМЫ ИММУНОПАТОЛОГИИ

Н.Е. Черепяхина⁴, Е. Elbeik⁵, Д.В. Шабанов³, А.Ю. Шубенина³, К.А. Ахмедилова⁶, Третьяк Е.Б.⁷, С.В. Сучков^{1,2,3}

¹ММА им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; ²МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия; ³МГМСУ, Москва, Россия; ⁴ФГУЗ КБ №85 ФМБА России, Москва, Россия; ⁵Lab of Microbiology, University of California at San Francisco, San Francisco, CA, USA; ⁶РГМУ, Москва, Россия; ⁷Клиническая больница №86 ФМБА, Москва, Россия

Дефекты Т-клеточного звена иммунитета. В наших исследованиях получены данные о наличии у больных с хроническими пиелонефритами (ХПНФ) и интракраниальными инфекционно-воспалительными процессами (ИКИВП) выраженных сдвигов в составе Т-клеточного звена адаптивной ветви иммунитета, независимо от формы ассоциированной с основным заболеванием иммунопатологии. Это согласуется с данными других авторов (Аль-Шукри С.К. и др. 1996; Hotta O. И др.1992; Sun J.S. и др.2002). При этом внутренняя архитектоника наблюдаемых сдвигов заметно отличалась и для синдрома постинфекционного вторичного иммунодефицита (СПИВИД), и для постинфекционного аутоиммунного синдрома (ПИФАС), и для постинфекционного аутоиммунного синдрома в сочетании с аутоиммунным синдромом (СПИВИДАС). Если в случае СПИВИД, наблюдаются признаки угнетения Т-звена (с ростом интенсивности апоптоза Т-лимфоцитов), то при постинфекционной аутоиммунной агрессии отмечалась картина активации Т-звена иммунитета (с подавлением апоптоза Т-лимфоцитов), а именно, в случае ПИФАС – выраженная; в случае СПИВИДАС – ограниченная. Картина активации также включала в себя значительный рост численности иммунорегуляторных субпопуляций, экспрессирую-

щих активационные маркеры и/или костимуляторные молекулы, в сочетании с возрастанием целого ряда иммунорегуляторных индексов. Особенность течения хронически-рецидивирующих, осложненных форм инфекционной патологии обусловлена тенденцией к неблагоприятному пути эволюции иммунного ответа - переключению с Th1-пути, направленного на элиминацию возбудителя, на Th2-зависимый иммунный ответ, провоцирующий развитие иммунопатологии. В этой связи подавление функции Т-звена, при первом рассмотрении, может свидетельствовать о неблагоприятном развитии инфекционного процесса с формированием значительного числа осложнений, особенно, при смешанных (оппортунистических) инфекциях, когда формируются симптомы идиопатической Т-лимфоцитопении (Duncan R.A. и др.1993; Yap G. и др.2000; Schluter D. И др.2003). В то же время при ХПНФ, в частности, отмечены отдельные случаи увеличения в крови не только общего числа зрелых Т-лимфоцитов, но и ряда регуляторных субпопуляций, несущих активационные маркеры (Nedelec J. и др.1990; Doggies R. и др.2001; Roos A. и др.2004), что может свидетельствовать о существовании иных механизмов (в том числе, аутоиммунного генеза), отличных от классического СПИВИД. И, действительно, наличие картины аутоиммунной агрессии (в том числе, на фоне СПИВИД) продемонстрировано рядом авторов при тяжелых формах патологии ЦНС, особенно, при смешанных нейроинфекциях с резкой активацией аутореактивных Т-лимфоцитов (Doggies R. и др.2001; Roos A. и др.2004). Неоднозначность аномалий в составе субпопуляций может указывать на поражение при ИКИВП и, вероятно, ХПНФ более глубоких (в том числе, регуляторных) звеньев иммунитета, определяющих картину иммунопатологии.

Дефекты В-клеточного звена иммунитета. В отношении состояния гуморального звена иммунитета у больных с ИКИВП и ХПНФ единое мнение отсутствует, ибо данные эти зачастую противоречивы (Благовещенская Н.С и др.1989; Дерюгина О.В.и др.2001; Sun J.S. и др.2001). По итогам наших исследований, для гуморального звена адаптивной ветви иммунитета характерным являются сдвиги, отражающие, как минимум, три функциональных состояния анализируемого звена, а именно: (а) угнетение функции выявлялось среди пациентов со СПИВИД; (б) гиперфункция (выраженная стимуляция В-клеточного звена иммунитета) является характерным для пациентов с картиной постинфекционной аутоагрессии – для ПИФАС; (в) ограниченная гиперфункция (функциональная стимуляция В-клеточного звена иммунитета при отсутствии количественных сдвигов)-для СПИВИДАС. Литература же насыщена данными как о снижении в периферической крови содержания В-лимфоцитов, так и об их увеличении в ходе развития и прогрессирования хронически-рецидивирующих заболеваний инфекционной природы. При ИКИВП, например, большинством авторов отмечаются высокие цифры сывороточных иммуноглобулинов IgG- и IgM-изотипов (в том числе, антиинфекционных). А наблюдаемая в большинстве случаев динамика роста серологических показателей у пациентов с ХПНФ является вообще, по мнению исследователей, отражением системной активации гуморальных механизмов иммунитета (Sun J.S. и др.2002; Horcajada J.P. и др.2004). Мы не согласны с такой интерпретацией результатов по двум причинам. Во-первых, у целого ряда больных, например, с ИКИВП выявлено снижение сывороточных уровней IgG и, более того, при множественных АГМ описаны случаи селективного IgA-дефицита, который авторы предлагают расценивать как имеющий в своей основе СПИВИД и считать фактором риска развития внутричерепных осложнений у больных с хроническими инфекциями бактериальной и смешанной природы. Во-вторых, в результате снижения специфической (в отношении конкретного АГ) активности В-лимфоцитов активирующий эффект пептидных инфекционных детерминант нивелируется, а влияние тимуснезависимых АГ (непептидной природы) на процессы активации В-лимфоцитов резко возрастает. При этом синтезируются иммуноглобулины только двух классов - IgA и IgM, сывороточный рост которых нельзя связывать с системной активацией гуморального иммунитета (Griffin D.E. и др.2001; Matsuo M. и др.2004). Таким образом, несмотря

на формирование широкого круга аутоАТ с антиинфекционной, антиорганной и анти-тканевой направленностью, у больных с ХПНФ и ИКИВП отсутствуют видимые признаки системной гиперактивации В-звена, что подтверждается итогами наших исследований и точкой зрения ряда авторов (Favaro S. и др.1986). Более того, доля В-лимфоцитов с фенотипами CD19⁺, CD20⁺ и CD72⁺ в большинстве случаев снижена, а чувствительность В-клеток к Т-супрессивным воздействиям, наоборот, повышена (Smith-Norowitz T.A и др.2000), что требует более углубленного исследования и поиска новых данных в отношении эффекторной и регуляторных функций В-звена иммунитета.

Нарушения в составе цитокинового спектра крови. Факторами, вызывающими формирование иммунопатологии, могут быть диспропорции в составе физиологических важных цитокинов. В наших исследованиях показано, что для СПИВИД у больных с ХПНФ и ИКИВП характерен дефицит провоспалительных цитокинов, тогда как для ПИФАС и СПИВИДАС характерным признаком является формирование диспропорций в цитокиновом спектре. В случае ПИФАС главной особенностью служит доминирование секреции про- над противовоспалительными цитокинами; в случае СПИВИДАС – мультифакториальный характер диспропорций (в частности, снижение уровня базальной секреции ИФН- γ и ИЛ-1 β и рост ФНО- α и ИЛ-8), иллюстрирующий участие различных семейств цитокинов в патогенезе синдрома.

Таким образом, обширная группа цитокинов участвует в формировании очагов воспаления в ходе прогрессирования хронического заболевания инфекционной природы. Не исключено, что в ближайшие годы весьма существенной для врача-практика станет информация о сочетанных эффектах всей группы цитокинов в механизмах антиинфекционного иммунитета в ответ на внедрившийся патоген, что даст серьезные основания для разработки новых поколений цитокиновой терапии.

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ НУКЛЕОФОЗМИНУ (NPM) И ХИМЕРНОМУ БЕЛКУ NPM-ALK С ПОМОЩЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

Шалгунов В.С., Стратиенко Н.В., Волкова Т.Д., Филатова М.П., Камынина А.В., Ким Я.С., Владимирова Н.М., Короев Д.О., Вольпина О.М.

ИБХ им. М.М.Шемякина и А.Овчинникова РАН, Москва, Россия

Ядрышковый белок нуклеофозмин (NPM), представленный в клетках человека изоформами NPM.1 и NPM.2, участвует таких процессах как биогенез рибосом, пролиферация клеток, стабильность генома и канцерогенез. Канцерогенез часто сопровождается сверхэкспрессией нуклеофозмина, образованием его специфических олигомеров и мутантных форм, несущих изменения в С-концевой области, а также химерных белков, таких как белок NPM-ALK, состоящий из N-концевого фрагмента нуклеофозмина и фрагмента анапластической лимфомной киназы (ALK).

Эффективным инструментом изучения механизмов процесса канцерогенеза и диагностики опухолевых заболеваний являются антитела (АТ), способные выявлять мономер и олигомеры нуклеофозмина, а также химерный белок NPM-ALK. Целью настоящей работы является получение АТ к синтетическим фрагментам нуклеофозмина и химерного белка NPM-ALK. Для синтеза пептидов выбраны следующие участки нуклеофозмина и белка NPM-ALK:

- участок (19-36) нуклеофозмина, находящийся в теоретически рассчитанном гидрофильном районе N-концевой области белка и содержащий потенциальные В-эпитопы и Т-хелперный эпитоп;

- С-концевой участок (283-294), характерный для нормальной изоформы NPM.1, но не для NPM.2 и мутантных форм NPM.1, и содержащий потенциальные В-эпитопы и Т-хелперный эпитоп;

- участок слияния последовательностей нуклеофозмина и анапластической лимфомной киназы (химерный пептид) в химерном белке NPM-ALK, включающий пять аминокислотных остатков NPM и пять аминокислотных остатков ALK.

Для получения противопептидных АТ были также синтезированы укороченные пептиды (25-36), (31-36) и (288-294).

Пептиды синтезировали твердофазным методом с использованием Fmoc-стратегии и использовали для иммунизации кроликов. Для иммунизации использовали конъюгаты пептидов с КЛН. Пептиды (19-36) и (283-294) использовали для иммунизации также в свободном неконъюгированном виде. Методом ИФА установлено, что пептиды (25-36), (31-36) и химерный пептид способны в виде КЛН-конъюгатов индуцировать у кроликов образование высокого уровня АТ, а пептид (19-36) способен индуцировать образование высокого уровня АТ как в виде КЛН-конъюгата, так и в свободном виде. Можно предположить, что последовательность (19-36) содержит Т-хелперный эпитоп, способный индуцировать Т-клеточный ответ.

Методом анализа иммуноблотов лизатов опухолевых клеток человека *HeLa* показано, что АТ, индуцированные КЛН-конъюгатом пептида (19-36) и свободным пептидом (19-36) выявляют мономерную форму нуклеофозмина и его олигомерные формы, характерные для опухолевых клеток, в то время как АТ против КЛН-конъюгатов пептидов (25-36) и (31-36) не выявляют нуклеофозмин ни в одной форме. АТ очищали с помощью аффинной хроматографии на колонках с соответствующими пептидными фрагментами. В настоящее время проводятся исследования иммунологической активности пептидов (283-294) и (288-294) и оценка специфичности АТ против этих пептидов и химерного пептида из белка NPM-ALK.

ВЛИЯНИЕ ВИДА И ДАВНОСТИ НАРКОТИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ РЯДА АУТОАНТИТЕЛ И ЦИТОКИНОВ

Шаркова В.А., Вавренчук В.В., Забелина Н.Р.

Государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Появление в организме любого экзогенного агента, как правило, инициирует активацию механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Однако особенности изменений в иммунной системе человека при формировании наркозависимости (НЗ) изучены недостаточно. Большинство авторов подчеркивают преобладающую активацию гуморальных механизмов при формирующейся НЗ, что может быть обусловлено посторонними факторами (вирусной инфекцией, хроническим сепсисом, аутоиммунным компонентом, связанным с полиорганным поражением, выработкой антител к различным препаратам наркотических препаратов и т.п.). Существенную роль отводят цитокиновым реакциям, не обладающим антигенной специфичностью, активация которых наблюдается при воздействии самых разных раздражителей (химических веществ, психотропных, наркотических препаратов и т.п.). Интерлейкины и др. цитокины обеспечивают сопряженное функционирование нервной, гормональной и иммунной систем (Лисянский Н.И., 2004).

Существует зависимость некоторых неврологических нарушений от характера экспрессии различных цитокинов в ЦНС. Ряд медиаторов (ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-10, ИЛ-1 γ), присутствующих в ЦНС, участвуют в развитии некоторых заболеваний нервной системы. Уровень их изменяется не только в мозге, но и в периферической крови (Segman R.H. et al., 2001). Роль интерлейкинов и интерферонов в центральных механизмах формирования различных нейрогормональных и поведенческих реакций недостаточно изучена. В тоже время известно, что интерлейкины оказывают влияние на содержание в структурах мозга некоторых нейромедиаторов, например норадреналина, серотонина, ацетилхолина, дофамина (Зубарева О.Е. и др., 2001), играющих важную роль в формировании НЗ. Возможно, что именно влияние цитокинов на определенные нейромедиаторные системы мозга, участвует в формировании НЗ.

В нашей работе было показано, что цитокиновый профиль больных НЗ длительностью до 1 года характеризуется повышением продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10, в сочетании с активацией синтеза провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β ,

ФНО α , ИЛ-8 и ИФН γ . При длительности НЗ от 1 до 3 лет отмечалось дальнейшее повышение уровня ИЛ-10 при снижении ИФН γ , т.е. отмечалась тенденция к переключению на иммунный ответ Th2-типа. При длительности НЗ свыше 3 лет отмечались еще более выраженные признаки прогрессивной иммуноактивации Th2-типа. Известно, что в крови здорового человека обнаруживаются естественные, аутоантитела (а-АТ) разной специфичности, вовлеченные в регуляцию физиологических механизмов и, в частности, в механизмы клиренса организма от отмирающих клеток и других продуктов катаболизма, а также от попадающих в организм ксенобиотиков. Известно, что наркотические препараты, соединяясь с белками организма *in vivo*, превращаются в полноценные антигены и индуцируют синтез специфических АТ, направленных как к гаптену, так и к белкам-носителям. Избыточный синтез последних может вести к формированию органной патологии. Нами были обнаружены изменения сывороточного содержания ряда а-АТ у лиц с НЗ. При этом особенно динамически менялось содержание а-АТ противосердечных, противопеченочных и противомозговых антител. Это позволяет предполагать возможность формирования новых подходов не только в диагностике, но и мониторинге терапевтических мероприятий при НЗ.

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ К СОБСТВЕННОМУ БЕЛКУ БТШ70: ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА АЛЛЕРГИЧЕСКУЮ АСТМУ, ВЫЗВАННУЮ ГРИБОМ *A. FUMIGATUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЫШИНОЙ МОДЕЛИ

Шевченко М.А., Шеховцова Е.Л., Сапожников А.М.

ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Понятие аутоаллергии появилось в 50-х годах прошлого века и рассматривалось в связи с аутоиммунитетом, нарушением компартиментализации и онкологическими процессами. На сегодняшний день под термином аутоаллергия подразумевают повышенный уровень аутоспецифичных антител (а-АТ) IgG1 или IgE классов в периферической крови, являющихся причиной положительных кожных тестов на собственный антиген. Такие а-АТ обнаруживают у пациентов с хроническими формами атопического дерматита или тяжелыми проявлениями аллергической астмы, в том числе с ассоциированной грибной инфекцией. Однако присутствующие в организме на базовом уровне а-АТ к собственным тканевым антигенам не представляют опасности и, как полагают, принимают участие в обеспечении иммунологической толерантности. В тоже время, усиленная продукция иммуноглобулинов при аллергической реакции приводит к кросс-реактивности этих а-АТ к собственным белкам организма, обладающим структурной гомологией с экзогенным аллергеном. Эксперименты на лабораторных животных показали, что увеличение периода ингаляций мышей с индуцированной овалбумином (OVA) аллергической астмой приводит к увеличению аутореактивности а-АТ периферической крови к антигенам из экстрактов внутренних органов мышей. Однако, данных об аффинности а-АТ к собственным антигенам, а так же об активации аутологичных Т-клеток не было получено [3]. Согласно представлениям о центральной толерантности, аутологичные Т клетки элиминируются в процессе селекции в тимусе. В тоже время ряд исследований с использованием периферической крови пациентов атопиков с гиперчувствительностью к *A. fumigatus* (Af) и *M. sympodialis* выявили *in vitro* пролиферацию Т-клеток в ответ на собственный антиген hMnSOD, гомологичный белку Asp f6 гриба Af. При этом, несмотря на то, что кожная реакция на собственный антиген была выражена более ярко, аффинность взаимодействия АТ с собственным белком была ниже, по сравнению с экзогенным антигеном [5,9]. Большое значение для активации продукции иммуноглобулинов имеет моноклональность Т-клеток и нахождение Т- и В-эпитопов в составе одной молекулы. Эти параметры, как было показано группой Lafaille J., необходимы для переключения на синтез IgE, так же как и для гиперпродукции IgE [4]. Pedotti R. и коллеги обнаружили высокую аутореактивность и анафилаксию, вызванные продол-

жительной иммунизацией мышей пептидом собственного белка миелина. При этом анафилаксия наблюдалась даже в условиях инъекций пептида в ПФА [7].

С целью оценить роль предрасполагающих и индуцированных аутологичных АТ в процессе формирования аутоаллергии, нами была предпринята попытка сравнить иммунный ответ на собственный и чужеродный белки БТШ70. БТШ70 - высококонсервативное семейство белков, обладающих шаперонными свойствами и обеспечивающих АТФ-зависимый фолдинг белков. Корреляция между повышением уровня IgG1 к собственному белку БТШ70 и степенью тяжести астмы была показана для пациентов-астматиков в Китае [10]. Кроссреактивность АТ сыворотки к собственному белку БТШ70 так же была показана для пациентов с атопической экземой/дерматитом, с гиперчувствительностью к белку Mala s10, относящемуся к семейству БТШ70 [1]. Однако, согласно базе данных молекул аллергенов AllFam ни один из белков, относящихся к семейству БТШ70, не является аутоаллергеном. Большинство этих белков охарактеризовано как аэроаллергены, за исключением Mala s 10, отнесенного к контактными аллергенами. К семейству БТШ70 также относятся следующие белки-аллергены: Der f БТШ70, Alt a 3, Cla h БТШ70 or Cla h 4, Cor a 10, Pen c 19. Аллергенные свойства гомологичного БТШ70 белку человека белка из гриба Af (Af БТШ70) на настоящий момент не изучены [2, 8]. Одной из отличительных особенностей белков семейства БТШ70 является наличие АТФ-связывающего домена на наиболее консервативном N-конце белковой молекулы, способного связывать молекулу АТФ с аффинностью порядка 10^{-9} М. Благодаря этому свойству, достаточно просто осуществить выделение белка БТШ70 из различных биологических субстанций [6].

Целью работы было исследование эффекта сенсибилизации к собственному БТШ70 на проявления аллергической астмы, вызванной грибом Af в модели на мышах. Решались следующие задачи 1) оценить возможность вызвать активацию Т-лимфоцитов и продукцию специфических АТ путем краткой и длительной иммунизации мышей собственным – БТШ70 мышью (мБТШ70); 2) определить кроссреактивность анти-AfБТШ70 IgG к мБТШ70 и наоборот, способность анти-мБТШ70 АТ связывать AfБТШ70; 3) сравнить особенности проявлений аллергической астмы, вызванной ингаляцией Af мышам, сенсибилизированным к AfБТШ70 и мБТШ70.

БТШ70 выделяли из органов мышей или из экстракта Af (мБТШ70 и AfБТШ70, соответственно) с использованием АТФ-агарозы. Чистоту белков определяли с помощью электрофореза и вестерн-блоттинга с моноклональными анти-БТШ70 АТ BRM 22 (Sigma). Мышам линии BALB/c были проведены инъекции соответствующим антигеном интраперитонеально, в фосфатном буфере, без адьювантов. Единичная доза составила 10 мкг/мышь и была введена 10-икратно в течение 2-х недель согласно краткосрочному протоколу, или 3-мя циклами соответствующими краткосрочному протоколу, с интервалом 1 месяц – продолжительный курс иммунизаций. Мыши из контрольной группы получали инъекции OVA согласно вышеописанным протоколам. Через неделю после последней инъекции, мышам ингалировали экстракт Af (Af crude) 125 мг/мышь/инъекцию, 3 раза в день, 3 дня в неделю. Уровень специфического сывороточного IgG определяли с помощью ELISA. Кросс-реактивность антител, специфичных к БТШ70 различной природы, определяли конкурентной ELISA. Интенсивность воспаления легких в результате ингаляций Af crude оценивали путем общего и дифференциального подсчета клеток в бронхо-альвеолярном лаваже (БАЛ).

По базам данных Protein Entrez Database, белки мБТШ70 и AfБТШ70 обладают высокой гомологией, особенно на участке с 1-ой по 554-ую аминокислоту. Однако, C-концевой участок не столь консервативен, что позволяет предположить способность AfБТШ70 наравне с другими экзогенными белками вызывать специфическую продукцию антител, при инъекции мышам. В отличие от AfБТШ70, инъекции которого способны вызвать повышение уровня специфических IgG на вторую неделю после начала иммунизации, инъекции мБТШ70 не приводили к росту продукции специфических АТ в те

же интервалы времени. Повышение разовой дозы вводимого белка мБТШ70 не привело к появлению анти-мБТШ70 IgG. Перекрестное связывание АТ, индуцированных введением АfБТШ70 и мБТШ70, с мБТШ70 и АfБТШ70, не наблюдалось.

Индукция астмы приводила к инфильтрации легких макрофагами и лимфоцитами у мышей, сенсibilизированных к АfБТШ70. Картина в легких мышей, предварительно иммунизированных собственным белком мБТШ70 по краткосрочному протоколу, не отличалась от изменений в легких, не иммунизированных мышей, ингалированных Аf crude. Длительная сенсibilизация мышей собственным белком БТШ70 (продолжительный курс иммунизаций) приводила к повышению уровня анти-мБТШ70 IgG, сравнимому с повышением уровня анти-АfБТШ70 на вторую неделю при краткосрочном курсе иммунизации. Последующая ингаляция экстракта Аf вызывала интенсивную инфильтрацию легких нейтрофилами. Общее количество клеток, представленных преимущественно нейтрофилами, в БАЛ мышей, сенсibilизированных мБТШ70, на один порядок превышало количество клеток в легких мышей, сенсibilизированных к АfБТШ70.

Таким образом, собственный белок БТШ70 характеризуется низкой иммуногенностью, однако при длительном введении способен вызывать повышение уровня специфических АТ, что вероятно способствует обострению воспаления в легких в ответ на ингаляцию экстракта гриба Аf.

1. Andersson A, et al. Eur J Biochem. 2004 May;271(10):1885-94.
2. Bowyer P, Denning DW. Med Mycol. 2007 Feb;45(1):17-26.
3. Bänder R, et al. J Allergy Clin Immunol. 2004 Aug;114(2):422-8.
4. Curotto de Lafaille MA, et al. J Immunol. 2004 Dec 15;173(12):7259-68.
5. Glaser AG, et al. Biochem J. 2006 May 15;396(1):41-9.
6. Ménoret A. Methods. 2004 Jan;32(1):7-12.
7. Pedotti R, et al. BMC Immunol. 2003 Feb 22;4:2. Epub 2003 Feb 22.
8. Radauer C, Marl A, Breiteneder H Allergy 2007, 62 suppl. 83, 154.
9. Schmid-Grendelmeier P, et al. J Allergy Clin Immunol. 2005 May;115(5):1068-75.
10. Yang M, et al. Respir Res. 2005 Feb 14;6:18.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ФАРМАКОКОНСТРУКЦИЙ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Т.Е. Шмидт, Н.В. Гуляева, О.Ю. Введенская, Н. Калаева, А.Г. Габиров, Н.Н. Яхно, М.А. Пальцев, С.В. Сучков

ММА им. И.М. Сеченова, Москва; Институт ВНД и нейрофизиологии РАН, Москва; ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

В последние годы интенсифицировались разработки лекарственных препаратов для лечения рассеянного склероза (РС). Для создания принципиально новых лечебных технологий необходимым является идентификация для каждого типа заболевания “своих” (высокоспецифичных) молекулярных и клеточных мишеней, тем более что РС представляет собой гетерогенное по спектру таких мишеней заболевание.

Патологический процесс при РС состоит из двух фаз (*фазы аутоиммунного воспаления и фазы нейродегенерации*) и трех стадий: (1) сенсibilизации/активации миелин-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) с аутоагрессивными свойствами; (2) проникновения ЦТЛ в область ЦНС и (3) развития в ЦНС воспалительного ответа с индукцией демиелинизации и нейродегенерации.

В доклиническом периоде внедрение в организм провоцирующего фактора (как правило, вируса) приводит к активации вирус-специфических ЦТЛ, вызывающих гибель инфицированных клеток (в том числе, клеток, продуцирующих миелин). В *фазе 1* аутоантигены (аутоАГ), высвобождаемые из разрушенных участков миелина (“бляшек”) презентуются Т клеткам-хелперам с развитием воспалительной реакции. В *фазе 2* активированные ЦТЛ вершат демиелинизацию. Складывающаяся ситуация отражается и на состоянии *немиелинового компартмента*, ибо, помимо ЦТЛ, макрофагов и комплемен-

та, целая армия других инструментов (например, ферменты-протеазы и антитела (АТ-протеазы) целенаправленно разрушают миелин, стимулируя нейродегенерацию. При этом ЦТЛ и макрофаги продуцируют ряд токсических соединений, повреждающих олигодендроциты и аксоны. Так запускаются процессы вторично-разрушающего действия эффекторов, подавляя дифференцировку ранних предшественников олигодендроцитов. Несмотря на значительный прогресс, в терапии РС отсутствуют препараты, непосредственно влияющие на процессы демиелинизации и регенерацию. К сожалению, до сих пор не взят за основу принцип лекарственной комбинаторики как ключевое направление в улучшении лечения больных РС.

Т-клеточная аутовакцинация. Из перспективных подходов к терапии РС следует упомянуть об аутовакцинации Т-клетками. Но эти технологии воздействуют лишь на одно звено патологического процесса (аутореактивные ЦТЛ), не затрагивая другие (не менее важные) звенья патогенеза, что сужает возможности метода.

Высокодозовая иммуносупрессивная терапия с трансплантацией стволовых клеток. Метод наиболее эффективен в ранних стадиях с быстро прогрессирующим течением, когда основным механизмом развития заболевания является аутоиммунное воспаление. В более поздних стадиях РС преобладают нейродегенеративные процессы, и эффективность процедуры снижается.

Ауто трансплантация стволовых клеток. Помимо традиционного использования собственных (эндогенных) стволовых клеток, развитие получает пересадка стволовых клеток-предшественников олигодендроцитов, выращенных в условиях *in vitro* и способных формировать функционально полноценную миелиновую оболочку. Одним из существенных аспектов такой терапии является использование *шванновских* клеток как носителей-векторов генов, ответственных за экспрессию биомолекул с высоким репаративным потенциалом. При этом демиелинизацию можно блокировать при помощи статинов, модифицированных пептидных лигандов/МППЛ или специфичных к альфа4-интерину моноклональных антител.

Важнейшим этапом в поиске путей стимуляции дифференцировки ранних клеток-предшественников и индукции ремиелинизации является идентификация в составе пораженной нервной ткани (“бляшках”) молекулярных мишеней, способных отвечать физиологической реакцией на лекарственные стимулы. Прорыв в этой области уже обозначился – с помощью методов протеомики установлена группа белков, строго специфичных для каждого из типов “бляшек”. Инъекции таких белков животным с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (ЭАЭ) приводит к купированию клинической симптоматики и заметному улучшению патоморфологической картины заболевания.

В патогенезе аутоиммунного воспаления при РС и связанных с ним процессами демиелинизации особое место занимает гетерогенное по составу и функциональным задачам семейство протеаз. Эти ферменты (из семейства металлсериновых и цистеиновых протеаз) осуществляют направленный гидролиз ассоциированных с миелином белков с образованием пептидных фрагментов, часть из которых, обладая энцефалитогенными свойствами, способна стимулировать аутореактивные ЦТЛ к деградации миелина, а В-клетки - к синтезу антимиелиновых аутоАТ. Последние, в свою очередь, способны вызывать демиелинизирующий эффект посредством АТ-зависимого цитолиза. Таким образом, в прогрессировании демиелинизации ведущую роль среди молекулярных инструментов деструкции играет необычный, на первый взгляд, тандем из ферментов-протеаз и антимиелиновых аутоАТ. Особое внимание привлекают антимиелиновые АТ с протеолитической активностью (*АТ-протеазы*), которые обнаруживаются на доклинических стадиях заболевания и принадлежат к новой группе физиологически активных соединений с дуальными свойствами, объединенными эволюцией в структуре единой биомолекулы. Мишенями для протеолитической атаки являются миелиновые белки, в особенности, *ОБМ*, отличающийся сложной 3-мерной структурой и необычным спектром эпито-

пов. Поэтому протеолитическая активность АТ-протеаз может служить одним из инструментов тонкого контроля механизмов аутоиммунного воспаления и связанной с ним демиелинизацией, тем более что ОБМ и другие белки миелина могут подвергаться протеолизу с последующим высвобождением иммунодоминантных аутоэпитопов. Итогами является резкая интенсификация двух патогенетически значимых процессов - высвобождения эпитопов с энцефалитогенным потенциалом и появление *неоэпитопов*, служащих непосредственными индукторами демиелинизации в *миелиновом компартменте* и активации астроцитов и микроглии в *немиелиновом компартменте* одновременно. Смешанный характер эпитопов миелина, активирующих аутореактивные Т-лимфоциты и АТ-продуцирующие В-клетки, указывает на особую роль АТ-протеаз в патогенезе доклинических стадий РС. Такие АТ-протеазы являются активными участниками практически всех стадий повреждения миелина, включая ранние стадии вакуолизации и везикулизации. Присутствие АТ-протеаз обнаружено при всех типах РС, но наибольшая их встречаемость и величины протеолитической активности отмечены при *прогрессирующих* вариантах течения в стадии прогрессии и, в меньшей степени, при ремитирующих типах болезни.

Для АТ-протеаз характерно наличие, как минимум, двух уровней специфичности: (а) специфичности узнавания ОБМ, упакованного в толщу миелинового волокна, что важно для формирования участков повреждения миелина; (б) специфичности разрезания ОБМ, что может иметь значение для понимания механизмов специфичности протеолиза и демиелинизации в целом. В этой связи интересно наличие в ОБМ сразу нескольких сайтов разрезания для АТ-протеаз, большинство из которых локализуется в составе энцефалитогенных областей. При этом АТ-протеазы отличаются от ферментов-протеаз крайне высокой специфичностью узнавания субстрата, что продиктовано жесткой необходимостью узнавания в структуре ОБМ специфического эпитопа до начала инициации протеолиза и, соответственно, до развертывания клинической картины демиелинизации.

Меняя сайт-специфичность АТ-протеаз, можно способствовать сокращению числа точек приложения протеолитического эффекта в границах миелина, что может резко уменьшать масштабы демиелинизации или, по крайней мере, осуществлять целенаправленный отбор в структуре миелина менее опасных для пациента участков протеолиза. Поэтому создание сайт-специфической протеазы, способной узнавать и избирательно гидролизовать белковый эпитоп *in vivo*, является одной из фундаментальных проблем современной молекулярной медицины. Особую ценность в этой связи приобретают АТ-протеазы, способные непосредственно внедряться в процессы физиологической реконструкции тканей со сложной клеточной архитектурой, к числу которых относится нейроглия. В рамках этой новой лечебной идеологии одной из важнейших задач становится применение АТ-протеаз для торможения демиелинизации и индукции ремиелинизации и, соответственно, восстановления утраченных функций глии.

Современные методы генотерапии дают возможность направленно изменять функционирование ферментов в органах и тканях человека как в сторону суперэкспрессии определенных генов, так и подавляя экспрессию последних на уровне мРНК. Доставка соответствующего генетического материала (или малых интерферирующих РНК) при помощи лентивирусных векторов представляет перспективный подход к восстановлению спектров протеаз, поврежденных течением РС. Современный дизайн лентивирусных векторов позволяет создавать функционально значимые фармакоконструкции, содержащие наряду с компонентами, взаимодействующими с ГЭБ-рецепторами, биоэлементы, влияющие на активность конкретных протеаз-мишеней, т.е., фармакоконструкции будущего, обладающие плейотропным ресурсом.

В ближайшем будущем мы должны получить для лечения РС принципиально новые лекарственные препараты, технологии и схемы. И главным в таких схемах станет совершенно иная идеология – как врачу-клиницисту обозначить в метаболическом каскаде нарушений у конкретного пациента РС ту критическую точку, воздействуя на

которую, можно разобщить столь слаженные звенья патогенеза заболевания и, соответственно, открыть пути к новым успехам.

АУТОАНТИТЕЛА: ИНДУЦИРУЕТСЯ ЛИ ИХ СИНТЕЗ АУТОАНТИГЕНАМИ ИЛИ ИДИОТИПАМИ?

Шоенфельд Е.

Res. Unit of Autoimmune Diseases, Chaim Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv University, Israel.

Согласно «классическим» взглядам аутоиммунитет и аутоиммунные болезни индуцируются аутоантигенами. Т.е. если существует реактивное антитело (АТ) – оно было выработано в ответ на иммунизацию антигеном (АГ). Эта точка зрения подкрепляется тем, что некоторые АТ действительно специфично связываются с ауто-АГ (можно назвать их мишенями, подразумевая, что любые лиганды АТ являются АГ-индукторами).

В некоторых случаях (ацетилхолиновый рецептор при миастении гравис, МГ; gpIb при идиотипической тромбоцитопенической пурпуре, ИТП) существует рациональное объяснение патогенеза аутоагрессии при специфическом аутоиммунном заболевании. Дополнительное подкрепление теория (ауто)АГ запуска дает анализ последовательности нуклеотидов в структуре генов ауто-АТ (особенно в CDR3), позволяющий выявить соматические мутации, указывающие на их запуск посредством АГ. Для объяснения неожиданной утраты толерантности к поверхностным АГ собственных клеток предполагается, что ауто-АГ претерпевают изменения (линейные или конформационные) и становятся иммуногенными. Сложнее обстоят дела с внутриклеточными и внутриядерными ауто-АГ (напр., ДНК, нуклеосомы, ПДГ и т.д.), непосредственно не контактирующими с иммунной системой. Обычно предполагают возможность выхода внутриклеточных ауто-АГ на поверхность соответствующих клеток, что обеспечивает стимуляцию иммуноцитов, а с другой стороны, позволяет объяснить эффекторные реакции лимфоцитов и АТ на эти АГ в условиях *in vivo*. Тем не менее, я хотел бы предположить, что при некоторых аутоиммунных заболеваниях и, в особенности, при системных неорганоспецифических болезнях, при которых находят специфичные ауто-АТ к повсеместно встречающимся АГ (ДНК при СКВ, РНП при СЗСТ, ПДГ при ПБЦ, etc.), пусковой АГ может отсутствовать. Более того, связывание сывороточных ауто-АТ с предполагаемым убиквитарным АГ необязательно означает, что специфические мультиорганные поражения опосредуются связыванием соответствующих АТ (или аутореактивных Т клеток) с данным ауто-АГ.

Позвольте отметить, что в отличие от органоспецифичных аутоиммунных заболеваний, таких как МГ, аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА), ИТП и др., тысячи дотошных исследователей всего мира за десятки лет так и не смогли идентифицировать специфичные ауто-АГ при неорганоспецифичных болезнях. Не наводит ли это на мысль, что ауто-АГ как таковых не существует? К тому же, специфичное связывание АГ с АТ в пробирке еще не доказывает их участия в патогенезе болезни.

Рассмотрим ситуацию с СКВ и анти-ДНК АТ. В 1956 году 4 группы исследователей, изучавших сыворотки больных СКВ, взяли с полки склянку с дц-ДНК и обнаружили, что сыворотки больных связываются с дц-ДНК. Вскоре появились сообщения о корреляции между титрами анти-ДНК ауто-АТ сыворотки и клинической активностью СКВ, что и стало основой для заключения об их патогенетической роли. Однако, в то же самое время, было обнаружено, что сыворотка пациентов с СКВ связывается еще более avidно с синтетическим полинуклеотидом poly(dG-dC). Если бы в 1956 те же исследователи взяли с полки с реактивами не дц-ДНК, а poly(dG-dC), сегодня мы могли бы титровать сыворотки больных СКВ не на АТ к дц-ДНК, а на poly(dG-dC) АТ, и рассматривать их в качестве параметров клинической активности СКВ. То же самое можно сказать и в отношении нуклеосом. В последние годы многие предполагают, что АГ-мишенью при СКВ является не дцДНК, а нуклеосомы (комплекс ДНК и гистонов). Некоторые ут-

верждают, что метод Fagг, которым мы определяем высокоавидные анти-дцДНК АТ, срабатывает только благодаря связыванию этих АТ с нуклеосомами. Соответственно, встает необходимость объяснить, каким образом нуклеосомы нарушают толерантность к самим себе. Было предположено, что усиленный апоптоз клеток при СКВ ведет к экспозиции нуклеосом на поверхности клеток, активируя тем самым иммунную систему. Я бы не удивился, если через несколько лет ДНК и нуклеосомы будут заменены альтернативными ауто-АГ (напр., ламинином, фибронектином или др.).

Несмотря на несколько сообщений, свидетельствующих о способности АТ проникать внутрь клеток (Immunology Today, A. Segovia), пока не существует объяснений того, почему связывание анти-ДНК (или анти-нуклеосомных) АТ с ДНК или нуклеосомами ведет к психозу при СКВ, или к плевриту, перикардиту, или к аплазии костного мозга, ни каким образом связывание анти-РНП антител с 68 кД РНП при смешанном заболевании соединительной ткани ведет к феномену Рейно. Или, наконец, каким образом реакция между топоизомеразой-1 с соответствующими АТ ведет к увеличению продукции коллагена при системном склерозе? Все это разительно отличается от эффектов связывания анти-АсR АТ с АсR при МГ, или антиэритроцитарных АТ при АИГА, или анти- gpIb АТ с тромбоцитами при ИТП. Отметим, что не существует ясного объяснения клинико-патологических эффектов даже наиболее специфичных АТ (напр., АТ к пируватдегидрогеназе при первичном билиарном циррозе).

Гипотеза

Может ли быть, чтобы ауто-АГ, как таковой, отсутствовал? Не введены ли мы в заблуждение идеей, представляющей лишь исторический интерес, как это уже было с естественными ауто-АТ? Десятилетиями Эрлиховская идея о “horror autoxicus” блокировала развитие теорий аутоиммунитета. Долгие годы существование естественных ауто-АТ отрицалось теорией запрещенных клонов Бернета. Патогенез «классических» аутоиммунных болезней (аутоиммунной гемолитической анемии, тромбоцитопенической пурпуры, миастении гравис, болезни Базедова-Грейвса, пузырчатки) объясняется связыванием АТ с отдельными, хорошо изученными АГ-мишенями. Может быть мы привычно, но неоправданно полагаем, что при любом заболевании, которое считается «аутоиммунным», следует искать ауто-АГ?

Индуктировать СКВ у интактных мышей путем иммунизации их ДНК невозможно. Нельзя этого добиться и при пассивном введении АТ к ДНК. Эти наблюдения привели нас к попытке нового подхода к провоцированию СКВ. Наш подход основан на активной иммунизации здоровых линий мышей анти-ДНК АТ, эмульгированными в полном адьюванте Фрейнда. Спустя 3-4 месяца от начала иммунизации у мышей развивались серологические и клинические признаки, характерные для СКВ, включая увеличение СОЭ, лейкопению, тромбоцитопению, поражение почек и ЦНС. Мыши разных линий неодинаково отвечали на иммунизацию АТ к ДНК, что, возможно, связано с различиями в наборах МНС-1. Иммунизация мышей АТ1 (Id) приводила к выработке АТ2 (анти-Id) и, в части случаев, АТ3, обладающих свойствами ауто-АТ. Вероятно, наши данные указывают на возможность повышения продукции (естественных?) АТ в результате идиотипической стимуляции. Можно полагать, что программа выработки этих антител является врожденной и кодируется в нашем иммунном репертуаре (иммунологическом гомункулусе). Наблюдавшиеся эффекты являются специфичными: при иммунизации мышей анти-ДНК, анти-La или анти-Sm АТ, их серологический репертуар, становится близким репертуару пациентов с СКВ (анти-ДНК, РНП, Ro/La); при иммунизации АТ к кардиолипину или фосфатидилсерину у мышей появлялись антифосфолипидные АТ, волчаночный антикоагулянт; при иммунизации АТ к протеиназе-3 (Pr-3; cANCA) у них появлялись анти-Pr-3 и анти-миелопероксидазные (MPO) АТ. Во всех экспериментах у мышей развилась клиническая картина соответствующего аутоиммунного заболевания. При иммунизации АТ к ДНК отмечался рост СОЭ, лейкопения, тромбоцитопения, повышение ЦИК, ведущее к атрофии клубочков в почках с отложением в мезангии того же

идиотипа, что был использован для иммунизации (16/6 Id). При иммунизации АТ к фосфолипидам развивалась тромбоцитопения и тромбоэмболия. При спаривании такие мыши отличались сниженной фертильностью и повышенной частотой выкидышей. Наиболее примечательно, что иммунизированные мыши давали весь спектр АТ, встречающихся в сыворотке больных СКВ, включая анти-дцДНК, анти-гистоновые, антикардиолипиновые, анти-Ro/La и даже анти-Sm. Многие из этих АТ были иммортализованы при помощи гибридомной технологии и использовались для экспериментов со вторым поколением мышей. Было показано, что нуклеотидная последовательность некоторых анти-ДНК АТ третьего порядка (АТ-3) повторяла последовательность АТ-1, использованных для первой иммунизации (Е. Mozes, личное сообщение).

Подчеркну, что использовавшиеся нами мыши не были иммунными к ДНК и относились к линиями, не предрасположенным к аутоиммунным болезням.

Последующие эксперименты с сANCA много дали в плане понимания необходимости ауто-АГ для запуска аутоиммунного заболевания. Мышиные лейкоциты (WBC) не содержат Pr-3 (А. Wiik, личное сообщение). Поэтому, чтобы зарегистрировать выработку АТ к Pr-3 у иммунизированных мышей линии BALB/c, нам пришлось использовать в качестве АГ человеческие лейкоциты или выделенный из них Pr-3. При иммунизации сANCA у мышей развивались стерильные микроабсцессы, артериолит, гранулемы, поражение почек в сочетании с мышинными сANCA и АТ к эндотелию. Таким образом, нам удалось индуцировать гранулематоз Вегенера (ГВ) у мышей, не синтезирующих Pr-3. Более того, в некоторых случаях запуск соответствующего аутоиммунного состояния осуществлялся при иммунизации ауто-АТ, выделенными из сыворотки здоровых лиц, т.е. естественными ауто-АТ. Все эти данные подтверждают возможность индукции некоторых аутоиммунных заболеваний не в результате аутоантигенной стимуляции, а за счет определенных дефектов иммунорегуляции, при разрушении естественных сывороточных ингибиторов, подавляющих активность естественных АТ. Недавно было предположено также, что некоторые перекрестно-реагирующие идиотипы могут быть суперантигенами для В-лимфоцитов.

Заключение

С учетом данных многочисленных лабораторных исследований, представляется разумным, если применительно к ряду «аутоиммунных заболеваний», при которых участие предполагаемого ауто-АГ в качестве индуктора не доказано, мы откажемся от идеи «пускового аутоантигена». Т.е. не будем рассматривать тот АГ, который используется в диагностических целях для выявления ауто-АТ, в качестве индуктора заболевания. Это касается СКВ (и ДНК как АГ), а также имеет место при ГВ (и Pr-3 как АГ), ПБЦ (и ПДГ как АГ), и ряде других аутоиммунных ревматических болезней с внутриклеточными АГ.

Если это действительно так, то как же нам определить у пациентов начало таких аутоиммунных болезней? В трех вышеописанных экспериментах мы индуцировали три аутоиммунных состояния: СКВ, антифосфолипидный синдром и ГВ, с помощью иммунизации здоровых мышей специфичными АТ в адьюванте Фрейнда. Во всех случаях у мышей был индуцирован повышенный синтез специфичных для указанных заболеваний АТ (АТ3 или анти-анти-ауто-АТ). Мы полагаем, что экспериментальная индукция зависела от наличия адьюванта и внутрикожной (интрапедальной) инъекции. Мы постулируем, что «естественный» аналог наших экспериментальных моделей – это индукция антибактериальных АТ, несущих «патогенные» идиотипы, которая может происходить у перенесших инфекцию пациентов. Действительно, ранее мы сообщали о наличии повышенных титров Id 16/6 (патогенного идиотипа анти-ДНК АТ), присутствующих в сыворотке больных, инфицированных микобактериями туберкулеза, клебсиеллами и другими грам-отрицательными возбудителями.

Таким образом, мы полагаем, что инфекция способна инициировать аутоиммунные заболевания путем индукции антибактериальных АТ1, несущих патогенные идиотипы. В условиях дополнительной адьювантной стимуляции или при наличии суперан-

тигена – такими свойствами обладают сами по себе многие бактерии, эти антитела (АТ1) могут запустить у субъекта с «подходящим» набором МНС и определенным гормональным фоном каскад идиотипической дисрегуляции (продемонстрированный нами на экспериментальных моделях), сопровождающейся выработкой АТЗ. Последние же могут самостоятельно либо путем дополнительной дисрегуляции индуцировать клиническую манифестацию аутоиммунной болезни.

Наши результаты подтверждают гипотезу Cohen об «иммунологическом гомункуле» и свидетельствуют, что, несмотря на продукцию в определенных условиях любых АТЗ, имеется некая селекция репертуаров АТ, определяющая возможность возникновения лишь ограниченного числа аутоиммунных заболеваний. Недавно Pascual and Sarra подняли вопрос о перекрестно реагирующих идиотипах, в частности, холодных агглютининов, использующих сегменты гена VH 4-21, способными быть В клеточными суперантигенами, активирующими многие В-лимфоциты. Отметим, что «наш» Id 16/6 недавно был секвенирован и также оказался закодированным в VH 4-21.

Во многих случаях аутоиммунная болезнь проявляется спустя месяцы или годы после перенесенного инфекционного заболевания, поэтому взаимосвязи между инфекцией и аутоиммунной патологией могут быть весьма отдаленными. В соответствии с нашей идеей, существует группа аутоиммунных заболеваний, при которых, несмотря на наличие специфических ауто-АТ и ауто-АГ, они не обязательно напрямую вовлечены в повреждение тканей. Соответственно, нам не надо пытаться объяснить, каким образом АТ к ДНК индуцируют плеврит или когнитивные расстройства, как АТ к кардиолипину вызывают мигрень и сетчатое ливедо, или как АТ к Pг-3 вызывают повреждение почечных клубочков. Более того, нам нет необходимости искать внутриклеточные АГ на поверхности клеток-мишеней, как условие патогенности соответствующих ауто-АТ. Повреждения, присущие этой группе заболеваний, могут индуцироваться посторонним АГ, либо зависеть от нарушений равновесия идиотипической сети.

Отметим, что высказанное предположение получило дополнительные подтверждения на модели васкулита с АТ ANCA. Было показано, что индукции васкулита предшествует следующая цепочка событий. Инфекционный агент *S. aureus* (или другой), имеющий антигенное сходство с cPR-s, индуцирует синтез непатогенных АТ1, направленных к cPR3 (АТ1). Эти АТ1, в свою очередь, запускают идиотипический каскад, приводящий к продукции патогенных АТ2, взаимодействующих с PR-3 и индуцирующих развитие васкулита.

From: BRATISL. LEK. LISTY, 99, 1998, p. 410 – 412, with new author's additions (2008)

References

- Shoenfeld Y.: Idiotypic induction of autoimmunity: a new aspect of the idiotypic network. *FASEB J.*, 1994, 8, 1296-1301.
- Shoenfeld Y.: Common infections, idiotypic dysregulation, autoantibody spread and induction of autoimmune diseases. *J. Autoimmunity*, 9, 1996, 235-239.
- Shoenfeld Y.: Anti-DNA antibodies: is DNA a self antigen or shelf antigen or are autoimmune rheumatic diseases immunogen driven? *Rheum. Europe*, 24, 1995, Suppl. 2, 17-20.
- Shoenfeld Y. The idiotypic network in autoimmunity: antibodies that bind antibodies that bind antibodies. *Nat. Med.*, 2004, 10: 17-18.
- Pendergraft WF 3rd, Preston GA, Shah RR, Tropsha A, Carter CW Jr, Jennette JC, Falk RJ. Autoimmunity is triggered by cPR-3(105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3. *Nat. Med.*, 2004;10:72-79

РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ В ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ, РОЖДЕННЫХ ОТ ЗДОРОВЫХ МАТЕРЕЙ

З.И. Эсмурзиева¹, Л.Г. Кузьменко¹, А.А. Абросимова²

1. *Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;*

2. *Медицинский исследовательский центр «Иммункукус», Москва, Россия*

Целью работы было уточнение референтных значений уровней естественных аутоантител (а-АТ) в пуповинной крови здоровых новорожденных.

Материал и методы. Исследовали 25 новорождённых детей из семей с неотягощённой наследственностью, антенатальный период которых протекал благоприятно. Критерии включения детей в данную группу: неотягощённый семейный анамнез, отсутствие у матери хронических заболеваний, патологии беременности, острых респираторных заболеваний во втором и третьем триместрах, отсутствие отклонений в состоянии здоровья новорождённых, а также нормальная масса тимуса, рассчитанная по параметрам, ультразвукового сканирования. Взятие пробы крови для исследования и ультразвуковое сканирование тимуса у ребёнка проводилось с информированного согласия матери. Критерии исключения из группы наблюдения со стороны матери: хронические заболевания (разной этиологии), бесплодие, выкидыши и мертворождения в предыдущие беременности, индуцированная беременность, ранний токсикоз беременности, гестозы, острые заболевания во втором и третьем триместрах и другие отклонения от нормального течения данной беременности внутривенное введение иммуноглобулина (и проведение лечения другими иммунокорректорами). Критерии исключения со стороны ребёнка: любые отклонения в состоянии здоровья, тимомегалия или гипоплазия вилочковой железы. Определение уровня естественных а-АТ проводилось с помощью ИФА, результаты выражались в условных единицах (у.е.). Диапазон референтных значений определялся статистически, при включении в указанный диапазон не менее ½ часть случаев каждой специфичности.

Результаты. Результаты оказались близкими к значениям, полученным нами ранее. Тем не менее, были выявлены и некоторые отличия. Так, в предыдущих исследованиях было установлено, что практически у всех детей в возрасте от 0 до 7 лет референтный уровень а-АТ находится в пределах 0... -40 или 0... -50. В тоже время, согласно полученным нами уточненным данным, для здоровых детей, имевших нормальную массу тимуса и рожденных от здоровых матерей характерны несколько более высокие концентрации а-АТ к коллагену, мембранным белкам митохондрий печени, рецепторам инсулина, антигенам тромбоцитов и эндотелию сосудов (ANCA), чем считалось ранее. Соответствующие данные целесообразно учитывать при оценке состояния новорожденного и при прогнозировании возможных изменений его здоровья на основе анализа содержания естественных а-АТ в пуповинной крови. Уровни естественных а-АТ в сыворотке пуповинной крови здоровых новорожденных от здоровых матерей к некоторым соматическим антигенам, и антигенам неровной ткани представлены в таблице.

Антиген	Референтные значения (у.е.)
ДНК	0... -30
β ₂ -гликопротеин I	0... -30
АТ к β ₂ - гликопротеину I	0... -30
Ревматоидный фактор	0... -30
Коллаген	+25... 0
Миозин	0... -30
Цитоплазм. белок Cos-05-40	-20... -40
Белок мембран CoM-015-15	-20... -50
β-адренорецепторы	-10... -30
НО-синтаза	0... -20
Белок мембран LuM-01-230	0... -30
Цитоплазм. белок LuS-06-300	0... -30
Цитоплазм. белок LuS-0.6-80	0... -30
Цитоплазм. белок HeS-08-300	-10... -40
Цитоплазм. белок HeS-08-40	0... -40
Мембранные белки митохондрий печени	+20... -10
Белок мембран GaM-01-250	0... -30
Цитоплазм. белок Gas-03-300	0... -40

Белок мембран ItM-07-124	+10... -40
Белок мембран KiM-01-250	-20... -40
Белок мембран KiM-05-40	+5... -30
Цитоплазм. белок KiS-07-120	-10... -30
Инсулин	0... -30
Рецепторы инсулина	+15... -20
GFAP	-10... -40
ANCA	+5... -20
Белок мембран TrM-001-15	+10... -10
Белок мембран TrM-008-10	+5... -10
Белок мембран TrM-015-12	+5... -30
ANCA	+5... -20

Белок NF-200	10... -40	Серотонин	-10... -40
Белок S-100	-20... -50	Глутамат	-10... -30
Белок GFAP	-10... -50	ГАМК	0... -40
Белок MP-65	-20... -60	Дофамин	-10... -30

ПРИМЕНЕНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА У ДЕТЕЙ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ.

А.А.Эюбова., Т.Т.Панахова., Н.Г.Султанова.

АМУ, Кафедра детских болезней II, Баку, Азербайджан.

Бронхиальная астма (БА) остается одним из наиболее актуальных проблем клинической медицины. Увеличение заболеваемости, утяжеление течения БА и повышение риска возникновения стероидорезистентности связывают с нарушением иммунного статуса. При БА происходит перестройка иммунной системы и развитие IgE зависимых реакций, а также снижение продукции ИЛ-2. Заместительная терапия с помощью ИЛ-2 способна ликвидировать дисбаланс иммунной реактивности и устранить нарушение клеточной чувствительности к глюкокортикоидам, дать возможность снизить их дозу и сократить риск системных побочных эффектов, что позволит улучшить качество жизни и прогноз у больных БА. В связи с этим проведено исследование, определяющее эффективность и безопасность способов введения рекомбинантного ИЛ-2 человека - Ронколейкина (ООО «Биотек», Санкт-Петербург) в комплексном лечении больных БА. Иммуноterapia Ронколейкином приводит к уменьшению IgE- опосредованной активности иммунного воспаления в бронхах, позволяет уменьшить дозы глюкокортикоидов у гормонозависимых больных, в том числе и стероидорезистентных.

Цель работы. Оценить клиническую эффективность терапии Ройколейкином у детей больных бронхиальной астмой

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 70 детей в возрасте от 2 до 14 лет больных БА. Среднетяжелая форма заболевания отмечалась у 93,3% больных, тяжелая у 6,7%. У детей с БА в 65% случаев отмечалась наследственная отягощенность по аллергическим заболеваниям. У 64% больных была выявлена патология со стороны ЛОР органов (хронический тонзиллит, фарингит, ринит). Все дети были госпитализированы в экстренном порядке с тяжелым некупируемым приступом удушья. При поступлении дети получали традиционную терапию (кортикостероиды, эуфиллин, антибактериальную терапию, муколитики), по необходимости - β -миметики и кислород.

В зависимости от получаемой терапии больные были разделены на 3 группы.

К I группе отнесено 24 больных, получающих патогенетическое и симптоматическое лечение. Ко II группе - 22 больных, получающих подкожное введение ронколейкина. Пациенты III группы - 24 больных получали препарат ингаляционно с помощью небулайзера. Подкожно больные получали ронколейкин в дозе 250000 МЕ до 5 лет, 500000 МЕ старше 5-ти лет. Ингаляционно получали ронколейкин по 250000 МЕ через небулайзер 1

раз в сутки. Всем больным препарат вводился четырехкратно с интервалом 24 часа. Дети получали препарат на второй день поступления. Эффективность лечения оценивали по динамике клинических симптомов. Критериями эффективности препарата являлись уменьшение частоты приступов БА днем и ночью, потребности в β_2 -агонистах, исчезновение гнойной мокроты, купирование обострения, возможность снижения дозы глюкокортикоидов, увеличение продолжительности ремиссии, сокращение частоты и срока госпитализации, улучшение качества жизни.

Результаты и обсуждение. Терапия ронколейкином оказалась эффективной у 80% детей с БА. После его применения у всех детей отмечались положительные сдвиги. У детей в течение суток после первого введения ронколейкина значительно улучшалось самочувствие: уменьшалась головная боль, исчезала слабость, отмечалось улучшение аппетита. Во второй и третьей группе улучшение состояния было одинаково. В контрольной группе интоксикационный синдром был более продолжительный. Длительность синдрома интоксикации в исследуемых группах достоверно сокращалась по сравнению с контрольной (4,8 дня). На второй день после инъекции препарата уменьшались симптомы интоксикации, количество мокроты снижалось, кашель становился легче, физикальные данные также имели положительную динамику. Более выраженные уменьшение частоты дневных и ночных приступов БА отмечено в группах с применением ингаляционным Ронколейкином (3 и 0,8). В контрольной группе (5,2 и 1,5). У больных с подкожным введением эффект наступал позже и составил соответственно (3 и 1). Начиная с 4 недели, во второй группе и с 10 недели в третьей группе ночных приступов удушья не возникало. В следующие 5-8 дней состояние детей стабилизировалось, исчезли признаки обструктивного синдрома, что позволило перевести 2 гормонозависимых больных с пероральных кортикостероидов на ингаляционные, остальным – снизить дозы преднизолона, двоих детей перевести на тайлед.

Включение Ронколейкина в комплексную терапию больных с БА позволило сократить длительность пребывания в стационаре на 25,9% (с 25 до 20 койкоднев). В течение 6 месяцев после курса РИЛ-2 у детей было достоверно меньше дневных и ночных симптомов БА, снизилась кратность применения β -агонистов. За время амбулаторного наблюдения в течение 6 месяцев в группах с применением Ронколейкина не возникало случаев необходимости в госпитализации, значительно уменьшилась частота острых респираторных заболеваний. БА из трудноконтролируемой перешла в разряд контролируемой базисными препаратами (кромогликатом или ингаляционными КС), отмечалось снижение кратности ОРВИ их тяжести, отсутствие или уменьшение осложнений привело к снижению кратности госпитализации, а также необходимости применения антибактериальных препаратов.

Таким образом применение ронколейкина в приступный период БА у детей способствовало не только быстрому купированию обострения, но и улучшению течения БА, ответа на базисную терапию с течением времени (6 месяцев).

Выводы:

1. Включение ронколейкина в комплексную терапию больных сопровождается положительным клиническим эффектом, влияет на качество жизни больных, способствует урежению приступов астмы и более легкому их течению, устранению ночных приступов, позволяет отменить или значительно снизить дозу глюкокортикоидов и сократить сроки стационарного лечения.

2. Ронколейкин не вызывает осложнений в течение заболевания.

3. Полученный клинический эффект свидетельствует о целесообразности применения Ронколейкина в комплексной терапии больных с БА.

4. Ингаляционный путь введения препарата дает быстрый положительный эффект. Подкожные введения оказывают более длительное катамнестическое действие.