

# СПОСОБНОСТЬ СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ А ТИПА М12 СВЯЗЫВАТЬ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОСТСТРЕПТОКОККОВОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

Бурова Л.А., Гаврилова Е.А., Пигаревский П.В.,  
Селиверстова В.Г., Нагорнев В.А., Шален К.\*,  
Тотолян Артем А.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН,  
Санкт-Петербург, Россия;

\* Отдел медицинской микробиологии, дерматологии и инфекционных болезней Лундского Университета,  
Лунд, Швеция

**Резюме.** Ранее во многих исследованиях на экспериментальной модели (кролики) острого постстрептококкового гломерулонефрита (APSGN) нами была доказана роль М-подобных иммуноглобулинов Fc-связывающих белков (IgG FcBPs) стрептококка группы А (GAS) в инициации деструктивно-дегенеративных поражений почечных клубочков, характерных для мембранозно-пролиферативного и деструктивного гломерулонефрита. Эта активность была установлена у штаммов типов 1, 22, 49, клинические изоляты которых способны связывать Fc фрагмент IgG человека и кролика и рассматриваются в качестве этиологического агента гломерулонефрита. В то же время хорошо известно, что штаммы GAS серотипа М12, также часто обладающие нефритогенностью, не способны взаимодействовать с мономерным IgG и обычно связывают агрегированный IgG, хотя, по-видимому, в обоих процессах должны участвовать IgG FcBPs.

В настоящей работе референс-штамм GAS типа М12(1800) и 21 клинический изолят того же типа, выделенные от больных APSGN, исследованы на способность связывать два типа искусственно образованных иммунных комплексов (ICs): (а) пероксидаза + антипероксидазный кроличий IgG (РАР ICs) и (б) столбнячный токсин + антистолбнячный IgG человека (ТАТ ICs). Из 21 клинического изолята 19 штаммов связывали как РАР, так и ТАТ ICs аналогично референс-штамму М12(1800). И только два клинических штамма не связывали перечисленные комплексы. Все штаммы не реагировали с нативным мономерным IgG человека и кролика.

Для экспериментов по индукции гломерулонефрита были выбраны штаммы М12(257) и М12(305), положительный и отрицательный, соответственно, по связыванию ICs, а также референс-штамм М12(1800). В почечной ткани кроликов, получивших инъекции GAS М12(1800) и GAS М12(257), но не GAS М12(305), была обнаружена картина иммунного воспаления и деструктивно-дегенеративных изменений, сопоставимая с наблюдаемой при APSGN. При этом только штаммы, способные связывать ICs, при введении кроликам вызвали образование циркулирующих анти-IgG, тканевую депозицию IgG и С3, а также продукцию IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  мезангиальными и эндотелиальными клетками гломерул. Известно, что именно эти изменения обычно сопровождают развитие экспериментального гломерулонефрита. Таким образом, полученные данные подтверждают представления о том, что способность GAS типа М12 связывать ICs, как и способность GAS других типов связывать мономеры IgG, а, следовательно, и рецепторные белки IgG FcBPs, должны играть ведущую роль в нефритогенной потенции данных микробов.

## Адрес для переписки:

Бурова Лариса Александровна  
Россия, 197376, г. Санкт-Петербург,  
Ул. Академика Павлова, д.12, ГУ НИИЭМ РАМН,  
Отдел молекулярной микробиологии.  
Тел.: 234-68-74, факс 234-94-77.  
E-mail: lburova@yandex.ru

**Ключевые слова:** гемолитический стрептококк группы А типа M12, иммунные комплексы, связывание микробами иммунных комплексов, экспериментальный гломерулонефрит.

*Burova L.A., Gavrilova E.A., Pigarevsky P.V., Seliverstova V.G., Nagornov V.A., Schalen V.A., Totolian Artem A.*  
**CAPACITY OF GROUP A (TYPE M12) STREPTOCOCCI TO BIND IMMUNE COMPLEXES AND THEIR ROLE IN PATHOGENESIS OF POST-STREPTOCOCCAL GLOMERULONEPHRITIS**

**Abstract.** In former studies, using an experimental rabbit model of acute post-streptococcal glomerulonephritis (GAS), we have proven a role of M-like Fc-binding streptococcal proteins (IgG FcBPs) for initiating destructive/degenerative lesions of renal glomeruli that are characteristic to membranous/proliferative and destructive glomerulonephritis. This activity was shown for the strains of types 1, 22 and 49. Their clinical isolates are able to bind Fc fragment of human and rabbit IgG, and are considered as an etiological agent of glomerulonephritis. It is well known that GAS strains of M12 serotype (commonly nephritogenic) are not able to interact with IgG monomers, and usually bind aggregated IgG, in spite of participation of IgG FcBPs in the both events.

In present study, the GAS reference strain M12(1800) and twenty-one clinical strains of M12 type isolated from the patients with acute poststreptococcal glomerulonephritis (APSGN) were tested for binding with two artificial immune complexes (ICs): (i) peroxidase – antiperoxidase rabbit IgG (PAP) and (ii) tetanus toxoid – anti-tetanus human IgG (TAT). Streptococcal strain M12 (1800), as well as the majority of clinical isolates (19 strains) were strongly positive for the binding of both ICs tested. Using previously described model of experimental streptococcal glomerulonephritis rabbits were injected with heat-killed M12(1800) and each of two clinical isolates M12(257) and M12(305), positive and negative for the binding of ICs, respectively. Renal tissue material of rabbits injected with M12(1800) and M12(257), but not M12(305), showed strong inflammatory and degenerative changes compatible with pattern observed in APSGN. Streptococcal strains M12(1800) and M12(257), in contrast to strain M12(305), induced circulating anti-IgG, tissue deposition of IgG and C3 as well as secretion of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  by the glomerular mesangial and endothelial cells. Our experimental data suggest that the IC-binding ability of type M12 streptococci should be of importance for the nephritogenic potential of these GAS serotype strains. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 623-630)

## Введение

Постстрептококковый гломерулонефрит относится к тяжелым иммунопатологическим осложнениям, вызываемым стрептококками группы А (GAS), и развивается, как правило, после перенесенной острой инфекции и в случаях неадекватной терапии. Стрептококки данной группы можно условно разделить на два класса [14]. К классу I относятся так называемые «ревматогенные» типы стрептококков (M1, M3, M5, M6, M14, M18, M19, M24), к классу II – «нефритогенные» типы, приводящие к развитию острого постстрептококкового гломерулонефрита (APSGN) (M1, M4, M12, M49, M55, M57, M60). Большинство последних обладает способностью активно взаимодействовать с Fc фрагментом IgG человека и некоторых млекопитающих за счет M-подобных IgG Fc-связывающих белков (IgG FcBPs), относящихся к ведущим факторам патогенности микроба.

В последнее время от больных и носителей наиболее часто выделяются штаммы GAS типа M12 [9, 16]. Следует напомнить, что стрептококки данного типа способны реагировать не с мономерным, а с агрегированным IgG человека [20, 21]. Лишь у одного клинического изолята типа M12 удалось выявить связывание IgG<sub>3</sub> человека [11, 17, 18]. Попытки обнаружить аналогичную активность у других штаммов типа M12 не увенчались успехом. В то же время, ранее было показано, что референс-штамм типа M12(1800) способен индуцировать у кроликов синтез анти-IgG, тканевую депозицию IgG и C3 компо-

нента комплемента аналогично другим типам GAS, связывающим нативный IgG человека и ряда млекопитающих [6]. Мы отнесли этот эффект за счет связывания бактериями циркулирующих в крови животных естественных микроагрегатов аутологичного IgG, хотя допущение о значительной температурной или химической агрегации аутологичного IgG *in vivo* является достаточно дискуссионным.

В связи с этим было выполнено настоящее исследование влияния GAS типа M12 (референс-штамма и клинических изолятов) на их способность связывать искусственные иммунные комплексы. Для индукции экспериментального гломерулонефрита были отобраны штаммы положительный и отрицательный по связыванию ICs. Полученные результаты должны помочь найти ответ на вопрос о механизме «нефритогенной» потенции стрептококков типа M12.

## Материалы и методы

### Штаммы GAS, использованные в работе

В работе использовали штаммы GAS: референс-штамм M12(1800) и выделенные от больных постстрептококковым гломерулонефритом клинические изоляты типа M12 в количестве 21 штамма, которые были любезно предоставлены доктором J. Sramek из стрептококковой референс-лаборатории BO3 (Czech Republic, Prague). Штаммы культивировали на бульоне Todd-Hewitt (фирма Difco, США) в аэробных

условиях при температуре 37°C. Микробные клетки убивали нагреванием при 56°C в течение 20-30 минут [6, 8].

### Введение стрептококков группы А кроликам

Опыты выполнены на кроликах-самках весом 2,0-2,5 кг. Животных получали из питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово». ГУ НИИ экспериментальной медицины РАМН имеет разрешение на работу с животными (Animal Welfare Assurance # A5243-01). Кроликам вводили внутривенно  $10^9$  убитой нагреванием микробной суспензии в 1 мл фосфатно-солевого буфера (PBS) трижды в неделю в течение 6 - 8 недель [6, 8]. Для выявления анти-IgG пробы крови у животных брали до иммунизации и в течение 8 недель инъекций.

### Тест по выявлению анти- IgG антител в сыворотках кроликов

Уровень анти-IgG в сыворотках определяли в реакции пассивной гемагглютинации с эритроцитами человека (группа 0, Rh+), сенсibilизированными анти-резусной (анти-Rh) сывороткой [6]. Кратко, постановка реакции пассивной гемагглютинации заключалась в следующем: свежие эритроциты человека (группа 0, Rh+) сенсibilизировали анти-Rh сывороткой (разведение 1:15 в PBS) в течение 90 минут при 37°C. Наибольшее разведение антистрептококковой сыворотки, агглютинирующее 1% сенсibilизированные эритроциты, принимали за титр анти-IgG со специфичностью антигена человека при отрицательной реакции той же антисыворотки с несенсibilизированными эритроцитами человека.

### Связывание иммунных комплексов и IgG стрептококками группы А

В работе использовали два варианта искусственных иммунных комплексов (ICs):

А) пероксидаза-антипероксидаза иммунные комплексы с пероксидазой из корня хрена (HRP типа 1, фирмы Sigma, США) и кроличьего IgG, выделенного из антипероксидазной сыворотки (фирма Dako, Дания) - PAP комплексы;

Б) столбнячный токсин (SBL Vaccin, Швеция) и антистолбнячный IgG человека (Tetagam, Behringwerke AG, Marburg, Германия) – TAT комплексы.

Для образования растворимого PAP комплекса антитела и антиген смешивали в разных соотношениях: 1:1, 1:2, 1:4 и 2:3, используя 22,7  $\mu$ M растворы пероксидазы и анти-пероксидазного кроличьего IgG, исходя из молекулярного веса антигена и антител. После осторожного перемешивания смесь оставля-

ли на 18-20 часов при 4°C [15]. Для разведения иммунных комплексов использовали 0,02M цитратно-фосфатный буфер, полученный путем смешивания соответствующих растворов лимонной кислоты и фосфата натрия для получения pH растворов, равный 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 и 7,5. Окончательные pH буферных растворов устанавливали с помощью 1M раствора NaOH. Для стабилизации в буферный раствор добавляли 1% бычьего сывороточного альбумина (BSA, фирмы Sigma, США) высокой степени очистки, не содержащего примеси иммуноглобулинов.

Аналогично готовили растворимые иммунные комплексы столбнячный токсин-антистолбнячный IgG, с учетом молекулярного веса токсина и IgG человека (TAT комплексы).

Для выявления способности интактных клеток микроба связывать PAP комплексы использовали колоние-дот-блот метод. Идентификацию стрептококковой субстанции, ответственной за связывание PAP ICs, проводили в Western-блоте, используя экстракты стрептококковых клеток, полученные путем обработки микробов ультразвуком. Для выявления связывания TAT комплексов использовали радиоиммунный метод с меченым  $^{125}$ I столбнячным токсином.

### Методы тестирования IgG Fc-связывающей активности у GAS

*Радиоиммунологический метод (РИА).* IgG Fc-связывающую активность интактных микробов в культуральной суспензии определяли по их способности связывать поликлональный нативный IgG человека или кролика, меченный  $^{125}$ I [6, 8]. Для иодирования иммуноглобулинов и столбнячного токсина использовали хлораминовый метод Greenwood с соавторами [12].

*Иммуноферментный анализ (колоние-дот - блот).* Нитроцеллюлозную мембрану [13] наносили на поверхность кровяного агара с выросшими в течение 18-20 часов стрептококками на 20 минут. Затем мембрану переносили на 30 минут на фильтровальную бумагу, интенсивно смоченную литической смесью (200 мг SDS, 8 мл 5N раствора NaOH и 1мл  $\beta$ -меркаптоэтанола на 200 мл дистиллированной воды). Затем мембрану отмывали PBS и инкубировали в течение 10 минут в блокирующем буфере (20 mM Трис-HCl и 0,15 M NaCl, pH 7,4, содержащие 1% BSA с 25 мкг/мл ДНКазы). После отмывания в блокирующем буфере с добавлением 0,1% Tween-20 нитроцеллюлозную мембрану разрезали на полоски и каждую из полосок инкубировали с соответствующими иммунными комплексами, антителами и антигенами, входящими в состав комплекса или с PAP-системой (Dako, Дания) для определения связывания микробами IgG.

### Иммуноморфологическое и электронно-микроскопическое исследование тканей

**Иммуногистохимический метод.** Для анализа использовали фиксированные в 4% параформальдегиде (в течение 12 часов) и депарафинированные тканевые срезы. Первые антитела наносили в разведении 1:50 в 0,01М фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 1% BSA, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После отмывания в PBS тканевые срезы инкубировали в течение 1 часа со вторыми антителами, меченными пероксидазой. В качестве субстрата применяли 0,05% диаминобензидин-тетрагидрохлорид и 0,03%  $H_2O_2$  в PBS (в течение 5 минут), затем срезы промывали в дистиллированной воде [7, 8].

Фиксацию кроличьего IgG в тканях идентифицировали обработкой тканевых срезов козьими моноспецифическими антителами к IgG кролика с последующей обработкой срезов антителами к козьему IgG, меченными пероксидазой.

Депозиция C3 компонента комплемента выявлялась обработкой срезов первоначально кроличьей сывороткой к C3 компоненту комплемента человека (перекрестно реагирующему с C3 кролика) производства фирмы Dako (Дания), с последующей обработкой моноспецифической антисывороткой к кроличьему IgG, меченой пероксидазой.

Для определения продукции цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  в тканях кроликов срезы обрабатывали поликлональными мышинными антителами к IL-1 $\beta$  кролика, козьими антителами к IL-6 человека и козьими антителами к TNF- $\alpha$  кролика, соответственно.

В качестве вторых антител использовали антикозий IgG, либо антимышиный IgG, меченные пероксидазой.

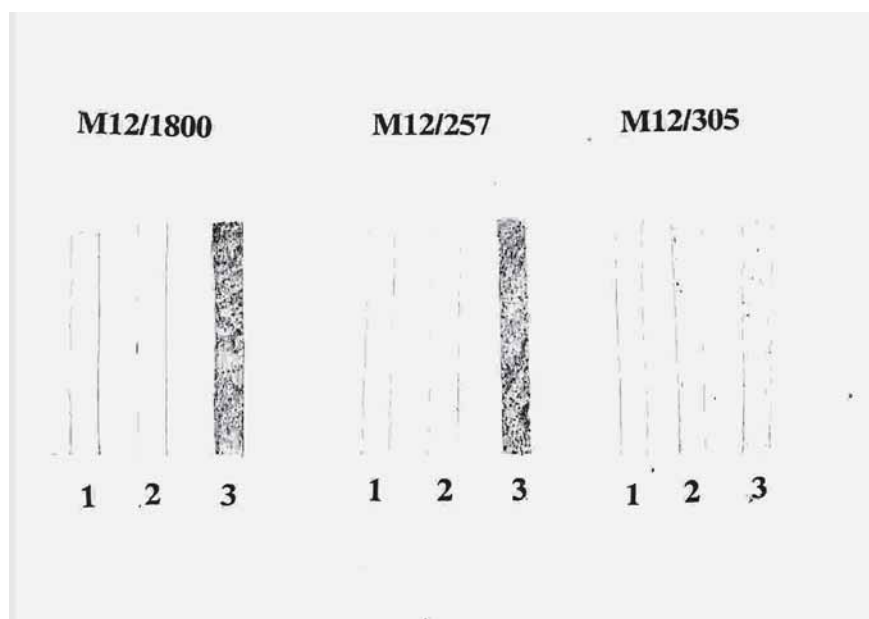
Для окрашивания тканевых срезов использовали гематоксилин-эозин. Тканевые срезы просматривали в микроскопе Axiomat (Opton). Подготовку срезов к трансмиссионной электронной микроскопии (ТЕМ) проводили согласно рекомендациям Угрюмова М.В. [5].

## Результаты

### Способность стрептококков группы А связывать иммунные комплексы

В модельных опытах с использованием референс-штамма GAS типа M12(1800) было установлено, что оптимальным соотношением антител и антигена в РАР комплексах является соотношение 2:3, а оптимальным для связывания иммунных комплексов является pH 5,5. В колоние-дот-блоте (рис.1) для детекции связывания комплексов различными M типами GAS удалось установить, что среди всех исследованных референс-штаммов можно выделить типы, отрицательные по связыванию ICs (M3, M6, M49<sup>-</sup> и T27), положительные по связыванию ICs (M12, M4<sup>+</sup>, M19, M57, M59, M60) и типы, связывающие как ICs, так и нативный IgG человека и кролика (M1, M5, M4<sup>+</sup>, M49<sup>+</sup>, M14, M22, M28, M55, M73 и M76). Большинство типов второй подгруппы относятся к «нефритогенным» типам.

Из 21 клинического изолята типа M12 только два оказались отрицательными по связыванию РАР



**Рис.1.** Детекция связывания РАР комплексов стрептококками группы А типа M12 (штаммы 1800, 257 и 305) в колоние-дот-блоте. 1 — контроль связывания антигена (пероксидаза); 2 — контроль связывания антител (кроличий IgG, выделенный из антипероксидазной сыворотки); 3 — связывание РАР иммунных комплексов.

ICs комплексов, в то время как 19 изолятов того же типа в колоние-дот-блоте связывали иммунные комплексы и не связывали нативный IgG человека и кролика.

Для связывания  $^{125}\text{I}$ -ТАТ комплексов референс-штаммом оптимальным оказалось соотношение антител и антигена 1:1 и pH буфера 6,0. Для большинства референс-штаммов связывание ТАТ комплексов

не превышало 40%, за исключением двух типов стрептококков М1 и М4<sup>+</sup>: где для М1 связывание ICs составляло 96%, а для М4<sup>+</sup> - 60%. По-видимому, у IgG Fc-позитивных штаммов GAS связывание ICs должно осуществляться за счет IgG FcBPs.

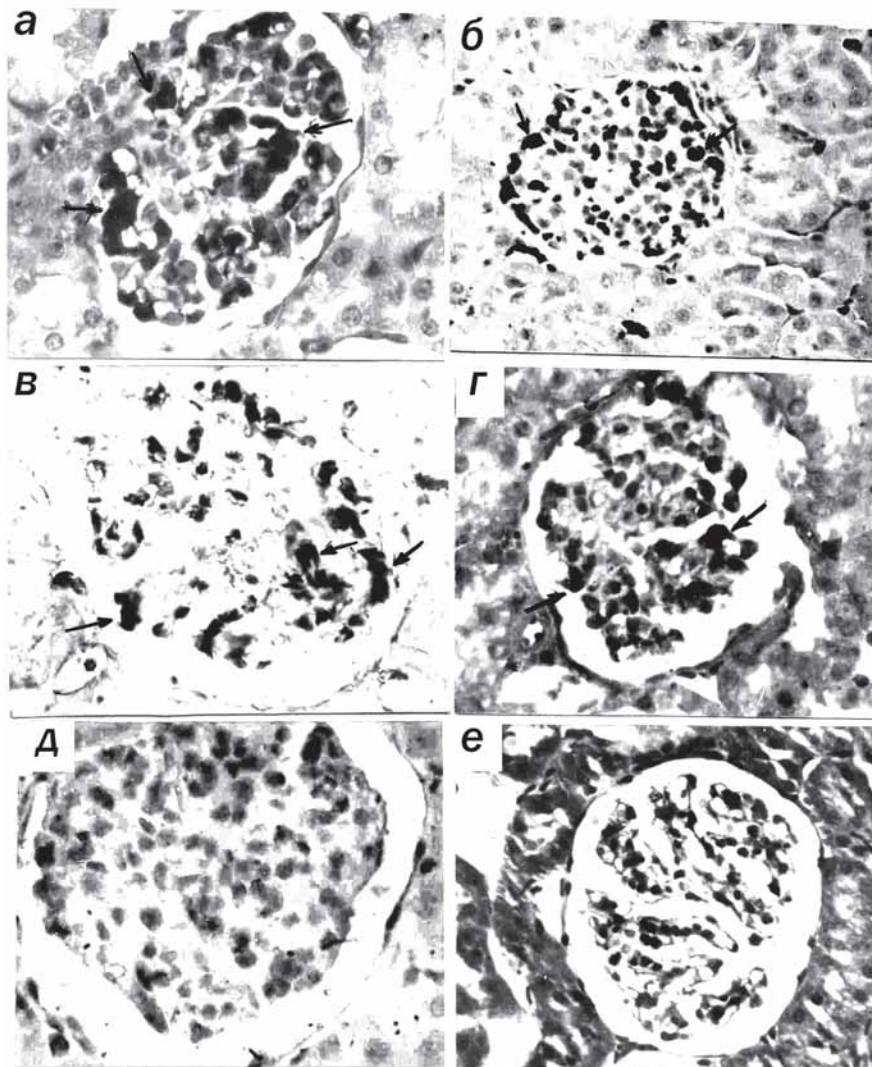
Большинство клинических изолятов (19 из 21) были способны связывать 30-40% ТАТ комплексов. Только один штамм 12(305) был негативным по связыванию обоих видов ICs. Все изоляты и референс-штамм М12 (1800) практически не связывали нативные IgG человека и кролика: связывание  $^{125}\text{I}$ -IgG не превышало 3,7-5,9% (табл.1).

В Western-блот анализе была идентифицирована субстанция с молекулярным весом порядка 48-50 KD, ответственная за связывание ICs стрептококками типа М12.

#### Индукция экспериментального гломерулонефрита

##### у кроликов GAS типа М12

Для индукции экспериментального гломерулонефрита были использованы следующие штаммы типа М12: референс-штамм М12(1800) и клинический штамм 12(257) – положительные по связыванию РАР и ТАТ комплексов, а также клинический штамм 12(305) – отрицательный по связыванию обоих видов ICs.



**Рис.2.** Тканевые изменения в почечной ткани кроликов, инъецированных референс-штаммом стрептококка типа М12(1800) (а, б, в, г, е) и клиническим изолятом М12(305) – негативным по связыванию иммунных комплексов (д).

Продукция IL-1 $\beta$  (а), TNF- $\alpha$  (б), IL-6 (в) – показано стрелками - и отсутствие синтеза IL-1 $\beta$  (д) мезангиальными клетками почечного клубочка. Депозиция IgG на базальной мембране почечного клубочка (г) – показано стрелками. Склероз капилляров почечного клубочка (е).

а, в, г, д X850; б, е X700; е- окраска гематоксилин-эозином.

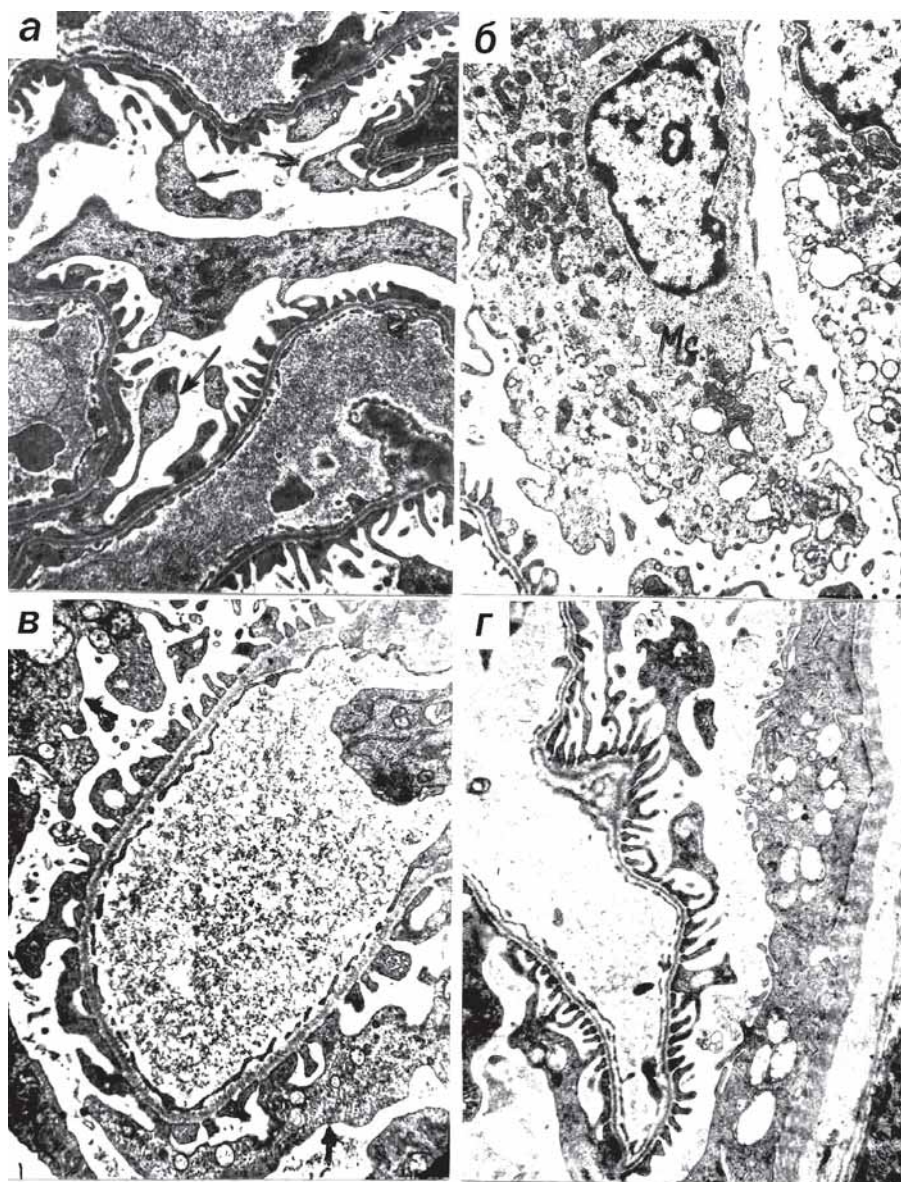
**Табл. 1.** СПОСОБНОСТЬ GAS ТИПА М12, РЕФЕРЕНС-ШТАММА (1800) И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ИНДУЦИРОВАТЬ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ У КРОЛИКОВ

Штамм	Связывание нативного IgG	Связывание РАР и ТАТ иммунных комплексов	Продукция анти-IgG	Депозиция IgG и С3 в почечной ткани	Продукция IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$	Индукция гломерулонефрита
М12/1800	2,5%	+* 43,5%**	1: 320	+	+	+
М12/257	3,5%	+ 37,4%	1: 160	+	+	+
М12/305	3,0%	- 5,7%	<1: 10	-	-	-

\* - связывание РАР комплексов: + наличие, - отсутствие; \*\* - процент связывания ТАТ комплексов в РИА.

Почечная ткань шести кроликов, которым штаммы М12(1800), М12(257) и М12(305) вводились с целью индукции процесса, была подвергнута иммуноморфологическому и гистологическому исследованию. Суммарные данные по способности микробов типа М12 инициировать гломерулонефрит приведены в таблице 1 и на рисунках 2 и 3. Как следует из таблицы, депозиция IgG и С3 была выявлена на базальной мембране почечных клубочков у четырех кроликов, инъецированных культурами М12(1800) и М12(257). У этих же кро-

ликов отмечалась продукция провоспалительных цитокинов мезангиальными и эндотелиальными клетками: IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ . При микроскопии почечной ткани указанных кроликов были обнаружены интенсивные деструктивно-дегенеративные изменения, характерные для мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита. Ни у одного из кроликов, получивших инъекции культуры М12(305), не наблюдали депозицию IgG и С3, продукцию цитокинов или деструкцию почечной ткани (табл. 1, рис. 2 и 3).



**Рис.3. Морфологические изменения в почечной ткани кроликов после инъекций стрептококков типа М12: референс-штамма 12(1800) и клинических изолятов 12(257) и 12(305), позитивного и негативного по связыванию иммунных комплексов. ТЕМ.**  
а) М12(1800). Деструктивно-дегенеративные изменения подоцитов (показано стрелками), деструкция эндотелия и выраженная пролиферация мезангиальных клеток. X 28000.

б) М12(257). Интенсивное утолщение базальной мембраны, пролиферация мезангиальных клеток и атрофия клубочка. X 24000.

в) М12(305). Расширение и наполнение клубочковых петлей, незначительная гипертрофия подоцитов без выраженных дегенеративных изменений. X32000.

г) Почечная ткань нормального кролика. X 28000.

## Обсуждение

Острый гломерулонефрит – тяжелое поражение аппарата почечных клубочков, развивающееся как последствие перенесенной стрептококковой инфекции кожи или верхних дыхательных путей [10, 22, 23, 24]. Возникая остро, как APSGN, процесс может приобретать хроническое течение и нередко приводит к дисфункции почек и к формированию вторичной гипертензии с летальным исходом [22]. Сложность изучения патогенетических механизмов стрептококкового гломерулонефрита вызвана его многофакторностью и связана с отсутствием адекватной заболеванию экспериментальной модели.

Ранее нами выдвинута и в последующем обоснована концепция об иницирующей роли IgG Fc-связывающих М подобных белков стрептококка группы А в индукции APSGN [2, 3, 4]. Она основана на способности IgG FcBPs белков GAS играть ключевую роль в патогенности стрептококков. Известно, что при GAS инфекции в крови больных резко возрастает концентрация IgG [19]. Этот факт, по-видимому, является следствием того, что IgG организма-хозяина при взаимодействии с IgG FcBPs приобретает аутоантигенные свойства в результате конформационных изменений в молекуле аутологичного иммуноглобулина G. Образующиеся при этом анти-IgG и, как следствие, иммунные комплексы IgG - анти-IgG способны «откладываться» в области базальной мембраны гломерул, что при условии депозиции в этих же структурах C3 компонента комплемента должно приводить к продукции мезангиальными клетками клубочков различных провоспалительных цитокинов и к формированию условий для проявления иммунного воспаления и деструктивных процессов в почечной ткани [1, 2]. Таковы основные положения выдвинутой концепции.

Описанный процесс вызывался исключительно штаммами GAS, обладающими IgG Fc-связывающей активностью в отношении нативного мономерного IgG. Именно эти штаммы обладают «нефритогенной» потенцией и часто выделяются от больных с APSGN. Исключение составляли штаммы типа M12, которые не способны реагировать с нативным IgG человека и кролика [20, 21]. Обращало на себя внимание то обстоятельство, что штаммы M12 типа, как правило, могли индуцировать у кроликов синтез анти-IgG, приводили к депозиции IgG и C3 комплемента на базальной мембране гломерул и к экспрессии их клетками провоспалительных цитокинов [6].

Изучение способности широкого набора референс-штаммов GAS разного серотипа реагировать с иммуноглобулинами позволило разделить их на три подгруппы: отрицательные и положительные по связыванию ICs, а также положительные по связыванию

ICs и нативного IgG. При этом все возможные «нефритогенные» типы укладывались в последние две подгруппы и преимущественно во вторую подгруппу. По-видимому, присутствие IgG FcBPs белков принципиально значимо для проявления этого свойства у GAS. Мы допускаем, что взаимодействие FcBPs, с одной стороны, и мономерного либо агрегированного IgG или искусственно сформированных иммунных комплексов, с другой, - реализуется посредством феномена Fc рецепции, хотя проявления этого реагирования у разных типов могут иметь различные механизмы и степень выраженности. В соответствии с этим ответ организма-хозяина (индукция анти-IgG, уровень C3 комплемента и тканевой депозиции иммунных комплексов и пр.) должен также проявляться по-разному. Приведенные в работе данные обнаружили способность клинических штаммов типа M12 связывать искусственные иммунные комплексы (PAP и TAT комплексы). Из 21 исследованного изолята только два оказались лишенными способности связывать ICs.

Как следует из экспериментов, только штаммы типа M12: M12(1800) и M12(257), связывающие ICs, проявляли «нефритогенность» и приводили к развитию аналога APSGN у подопытных кроликов. Введение кроликам штамма M12(305), лишенного способности связывать ICs, не вызывало поражения сосудистого аппарата почечных клубочков, характерного для мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита. Незначительные изменения, показанные на рис. 2 и 3, были преходящими и подверженными быстрому обратному развитию, а сама «нефритогенная» активность штаммов не зависела от вида иммунных комплексов. По-видимому, в условиях *in vivo* для инициации стрептококкового гломерулонефрита достаточно присутствие в организме хозяина различных видов и форм ICs, способных связываться со стрептококками группы А типа M12.

## Благодарности

Исследования были поддержаны грантом РФФИ (02-04-49223), грантом Президента России (НШ-2206.2003.4), а также грантами Alfred Osterlund Foundation, Royal Physiographical Society, Swedish Institute (Visby programme).

## Список литературы

1. Бурова Л.А., Тотолян А.А. Роль стрептококковых рецепторов в формировании микробного очага и развитии иммунопатологических состояний // Ревматология. – 1988. - № 3. – С.9-12.
2. Бурова Л.А., Нагорнев В.А., Пигаревский П.В., Гладилина М.М., Молчанова И.В., Селивер-

стова В.Г., Терн А., Линдал Г., Тотолян А.А. Стрептококковые IgG Fc-связывающие белки-факторы инициации экспериментального гломерулонефрита // Бюл. exper. биол. мед.- 1999. - 128. - № 11. - С.548-552.

3. Тотолян А.А., Бурова Л.А. Критический анализ предполагаемых механизмов патогенеза постстрептококкового гломерулонефрита // Микроб. антимикроб. химиотерап. - 2001. - 3.- №4.- С.316-323.

4. Тотолян А.А., Бурова Л.А., Нагорнев В.А., Пигаревский П.В., Шален К. Сердечно-сосудистые поражения при инфекционных заболеваниях // Вестник Российской Академии медицинских наук. - 2003. - №2. - С.56-61.

5. Угрюмов М.В. Современные методы иммуноцитохимии и гистохимии. // Итоги науки и техники. Серия "Морфология человека и животных". - Т.15. - М.: Наука, 1991.-117 с.

6. Burova L.A., Koroleva I.V., Ogurthzov R.P., Murashov S.V., Svensson M.-L., Schalen C. Role of streptococcal IgG Fc-receptor in tissue deposition of IgG in rabbits immunized with *Streptococcus pyogenes* // APMIS. - 1992. - Vol. 100. - P.567-574.

7. Burova L.A., Nagornev V.A., Pigarevsky P.V., Gladilina M.M., Seliverstova V.G., Schalen C., Totolian A.A. Triggering of renal tissue damage in rabbit by IgG Fc-receptor-positive group A streptococci // APMIS. - 1998. - Vol. 106. - P.277-287.

8. Burova L., Thern A., Pigarevsky P., Gladilina M., Seliverstova V., Gavrilova E., Nagornev V., Schalen C., Totolian A. Role of group A streptococcal IgG-binding proteins in triggering experimental glomerulonephritis in the rabbit // APMIS. - 2003. - Vol. 111. - P.955-962.

9. Creti R. Emm-types, virulence traits and antibiotic resistance genes of *S.pyogenes* strains isolated from carriers and infections. // International Symposium «Global burden of Streptococcal disease and European battle against it- conclusion of Strep-EURO project». Lund, Sweden 22-23 May, 2006. - P.23.

10. Cunningham M.W. Pathogenesis of group A streptococcal infections. // Clin. Microbiol. Rev. - 2000. - Vol. 13. - P.470-511.

11. Johansson P.J. Malone C.C., Williams R.C.Jr, Retnoningrum D.S., Cleary P.P. Streptococcus pyogenes type M12 protein shows selective binding to some human immunoglobulin G3 myeloma proteins // Infect. Immun. - 1994.- Vol. 62. - №8. - С.3559-3563.

12. Greenwood F.C., Hunter W.M., Glover J.S. The preparation of <sup>125</sup>I-labelled human growth hormone of high specific activity // Biochem. J. - 1963. - Vol.89, P.114-123.

13. Handman E., Jarvis H.M. Nitrocellulose-based assays for the detection of glycolipids and other anti-

gen: mechanism of binding to nitrocellulose // J. Immunol. Meth. - 1985. - Vol.83. - P.113-123.

14. Martin D.R. Rheumatogenic and nephritogenic group A streptococci // In: Streptococci and the Host / eds.: Haraud T., Bouvet A., Leclercq R., De Montclos H., Sicard M. - New York: Plenum Press, 1997. - Vol.418. - P. 21-27.

15. Motie M., Brockmeier S., Potempa L.A. Binding of model soluble immune complexes to modified C-reactive protein // J. Immunol. - 1996. - Vol.156. - P.4435-4441.

16. Papaparaskevas J., Stathi A., Tassios P.T., Zachariadou L., Pangalis A., Legakis N.J. Microbiological, epidemiological and clinical investigation of invasive Group A streptococcal infections, Greece 2003-2004. // International Symposium «Global burden of Streptococcal disease and European battle against it-conclusion of Strep-EURO project». Lund, Sweden 22-23 May, 2006. - P.24.

17. Retnoningrum D.S., Podbielski A., Cleary P.P. Type M12 protein from *Streptococcus pyogenes* is a receptor for IgG3 // J. Immunol. - 1993. - Vol.150. - №6. - P.2332-2340.

18. Retnoningrum D.S., Cleary P.P. M12 protein from *Streptococcus pyogenes* is a receptor for immunoglobulin G3 and human albumin // Infect. Immun. - 1994. - Vol.62. - P.2387-2394.

19. Rodrigues-Iturbe B., Carr R.I., Garcia R., Rabideau D., Rubio L., McIntosh R.M. Circulating immune complexes and serum immunoglobulins in acute post-streptococcal glomerulonephritis // Clin. Nephrol. - 1980. - Vol.13. - P.1-4.

20. Schalen C., Christensen P., Kurl D., Sramek J., Svensson M.-L. Interaction of nephritis strain-associated group A streptococci with aggregated human IgG // In: Recent Advances in Streptococci and Streptococcal Diseases / eds. Kimura Y., Kotami S., Shiokawa S. - London: Reedbooks Ltd., 1985. - P. 81-82.

21. Schalen C., Kurl D.N., Christensen P. Independent binding of native and aggregated IgG in group A streptococci // APMIS, Sect. B. - 1986. - Vol.94. - P.333-338.

22. Silva F.G. Acute postinfectious glomerulonephritis and glomerulonephritis complicating persistent bacterial infection. In: Jennette J.C., Olson J.L., Schwartz M.M., Silva F.G., editors. *Hepinstall's pathology of the kidney*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers, 1998. - P. 389-453.

23. Stollerman G.H. Rheumatic fever and streptococcal infection. In: Stollerman G.H., editor. *Clinical cardiology monographs*. New York: Grune and Stratton, 1975. - P.1-303.

24. Stollerman G.H. Rheumatogenic streptococci and autoimmunity // Clin. Immunol. Immunopathol. - 1991. - Vol.61. - P.131-142.

поступила в редакцию 01.09.2006  
принята к печати 20.10.2006