

КОМПЛЕКСЫ АЛЬФА-2-МАКРОГЛОБУЛИНА С АНТИТЕЛАМИ КЛАССА IgG, ПЛАЗМИНОМ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ДРУГИМИ ФАКТОРАМИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ РАЗВИТИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Зорина В.Н., Трофименко Н.А. *, Архипова С.В.,
Зорина Р.М., Зорин Н.А.

ГОУ ДПО Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей;

*Первая городская клиническая больница, г. Новокузнецк, Россия

Резюме. Человеческий альфа-2-макроглобулин (МГ) является не только полифункциональным белком, способным связывать широкий спектр цитокинов и протеиназ, но и эволюционно неизменным звеном врожденной иммунной системы. В то же время показано, что развитие ревматоидного артрита (РА) может привести к конформационному повреждению МГ и снижению его способности связывать и утилизировать регуляторные субстанции. Мы исследовали сывороточные концентрации комплексов МГ-IgG и МГ-ПЛ, а также общие концентрации МГ, IgG, плазмину (ПЛ), TNF- α , IL-1 β , IL-6 и РФ-IgM для того чтобы оценить уровень антителогенеза к МГ у пациентов с различными степенями активности РА и взаимосвязи сформированного комплекса с некоторыми другими субстанциями, вовлеченными в развитие РА. Сывороточные образцы были взяты при обострении заболевания до лечения. Мы обнаружили значимое повышение уровней МГ-IgG в группах с высокоактивным РА, сопровождающееся повышением общего IgG, но без значительного изменения общей концентрации МГ. Мы показали, что ПЛ-МГ уровень тоже растет при усилении активности и хорошо коррелирует с ростом МГ-IgG. Мы выявили значимое увеличение содержания TNF- α , IL-1 β , IL-6 и РФ-IgM при РА, без значимых корреляций с МГ-IgG. Полученные результаты позволяют предположить, что чрезмерное накопление при воспалении антител к МГ либо комплексу ПЛ-МГ, в сыворотке людей с врожденным дефицитом МГ, сопровождающееся накоплением провоспалительных цитокинов может спровоцировать каскадное развитие РА. Сывороточный уровень МГ-IgG может служить прогностическим маркером при РА.

Ключевые слова: альфа-2-макроглобулин, ревматоидный артрит, иммунокомплекс, аутоантитела, цитокины.

Zorina V.N., Trofimenko N.A., Arkhipova S.V., Zorina R.M., Zorin N.A.

ALPHA-2-MACROGLOBULIN COMPLEXES WITH IGG ANTIBODIES, PLASMIN, AND THEIR INTERRELATION WITH OTHER FACTORS OF HUMORAL IMMUNITY DURING THE DEVELOPMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract. Human alpha-2-macroglobulin (α 2-MG) acts as a broad-spectrum cytokine and proteasebinding protein, and it represents an evolutionarily conserved arm of innate immune system. Meanwhile, previous studies have shown that rheumatoid arthritis (RA) development may cause alterations in α 2-MG conformation and lessen its ability to bind and utilise regulatory substances. We investigated serum contents of α 2-MG-IgG and α 2-MG-plasmin complexes, as well as total concentrations of α 2-MG, plasmin (Pl), IgG, IL-6, IL-1 β , TNF α and Rf-IgM, in order to evaluate the levels of anti- α 2-MG antibody production in sera of patients

Адрес для переписки:

Зориной В.Н.

654005, г. Новокузнецк, Кемеровская обл.,
пр. Строителей, д. 5, Новокузнецкий ГИУВ, ЦНИЛ,
Тел.: (3843)45-84-18, (3843)45-56-41.
Факс (3843)45-42-19.
e-mail: : zorin@giduv.nkz.ru

with different degrees of RA activity and some interrelations of preformed immune complex with some other substances implicated in RA development. Serum samples were obtained in acute phase of RA, before the treatment was started. We have revealed significantly increased levels of $\alpha 2$ -MG-IgG complex in the groups with severe RA, accompanied by increase in total IgG levels, without significant changes in total $\alpha 2$ -MG concentrations. We have also demonstrated that increased levels of PI- $\alpha 2$ -MG complex did correspond to the severity of disease, and showed statistically high correlation with $\alpha 2$ -MG-IgG levels. We have found a significant increase of IL-1 β , IL-6, TNF α and Rf-IgM in RA, in absence of significant correlations with $\alpha 2$ -MG-IgG contents. The results obtained allow us to suggest that abundant accumulation of serum antibodies to $\alpha 2$ -MG or PI- $\alpha 2$ -MG complex during inflammation in the people with innate $\alpha 2$ -MG deficiency, followed by increased levels of pro-inflammatory cytokines, may provoke a cascade-like development of RA. Serum levels of $\alpha 2$ -MG may serve as prognostic marker in RA. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 5-6, pp 557- 562)

Введение

Ревматоидный артрит (РА) - это хроническое системное аутоиммунное заболевание с неизвестной этиологией, сопровождающееся разрушением суставных хрящей и костных тканей [16]. Аутореактивность, вне всякого сомнения, играет ведущую роль в патогенезе РА. Однако единичный антиген либо отдельная иммунная реакция не может быть ответственной за развитие РА. Таким образом, РА является клиническим проявлением перехода всей иммунной системы из нормального в патологическое состояние, и сопровождается различными иммунологическими процессами, которые могут возникать как параллельно, так и в виде каскадных реакций [9]. Например, одним из факторов, участвующих в развитии РА считается Fc γ IIIA рецептор (CD16), экспрессируемый на поверхности макрофагов. Селективное связывание IgG молекул данным рецептором стимулирует синтез макрофагами таких цитокинов, как TNF α , IL-1 и IL-6, которые в свою очередь участвуют в модуляции симптомов РА [11]. Альфа-2-макроглобулин (МГ), белок крови и многих других биожидкостей всех позвоночных, способный реагировать практически со всеми эндогенными протеинами, многими экзогенными энзимами [3, 13] и признающийся рядом авторов как древнее и эволюционно консервативное звено врожденного иммунитета [7], тоже принимает самое активное участие в развитии РА. Показано, что нарушение баланса протеиназы – ингибиторы протеиназы играет существенную роль в разрушении тканей при РА [18] и что при возникновении ревматических заболеваний зафиксирован аномально высокий уровень активации плазминогена [10]. В то же время МГ, являющийся наиболее быстро реагирующим ингибитором пламина, при РА часто оказывается поврежденным супероксидными анионами [14, 18]. Данная поврежденная форма МГ в комплексе с плазмином обладает значительно сниженной способностью к утилизации и надолго остается в циркуляции, что отражается на повышении концентрации комплексов МГ-ПЛ в крови и синовиальной жидкости при РА [15]. Интересно отметить, что именно комплекс МГ-протеиназа является основным, а в некоторых случаях и единственным переносчиком факторов роста и провоспалительных цитокинов [4, 8]. В этой связи интересным представляется изучение возможности

формирования аутоантител на подобную поврежденную форму МГ при РА и исследование взаимосвязи данных аутоантител с другими белками, участвующими в вышеперечисленных реакциях.

Для достижения поставленной цели мы изучили содержание в сыворотке комплексов МГ-IgG, учитывая, что использованный нами метод позволяет определить прежде всего аутоантитела к данному белку (содержание противоуглеводных аутоантител в общем пуле МГ-IgG не превышает 30% [1]). Кроме того, мы исследовали взаимосвязь данных комплексов с уровнями МГ-ПЛ комплексов и общими концентрациями МГ, IgG, пламина (ПЛ), TNF α , IL-1 β , IL-6 у пациентов с верифицированным диагнозом ревматоидный артрит. Помимо этого мы изучили сывороточное содержание и IgM-РФ. Кроме того, мы исследовали все вышеперечисленные показатели в сыворотке здоровых доноров в качестве контрольной группы и пациентов с верифицированным диагнозом реактивный артрит (РеА) урогенитального происхождения в качестве группы сравнения.

Материалы и методы

Мы исследовали сыворотку крови 51 больного ревматоидным артритом (РА), а также 15 больных реактивным артритом (РеА). Постановка диагноза осуществлялась на основании критериев, предложенных Американской ревматологической ассоциацией. Средний возраст больных колебался в пределах 45-60 лет и был примерно одинаковым во всех исследованных группах. Пациенты с РА были разделены на 3 группы по степеням активности заболевания, согласно рабочей классификации [6]. Учитывались такие показатели как утренняя скованность, гипертермия, содержание С-реактивного белка (СРБ), СОЭ и гамма-глобулинов. Кроме того, мы учитывали боль по шкале ВАШ и число задействованных суставов. С 1 степенью активности РА выявлено 15 больных, со 2-й – 20 и с 3-й – 16. В качестве контрольной группы, сопоставимой по половому и возрастному составу с группами больных, было обследовано 35 практически здоровых лиц, отобранных на основе диспансеризации. Во все группы больных входили как женщины, так и мужчины, примерно в одинаковом соотношении (3:1). Забор сыворот-

ки крови осуществлялся при обострении заболевания, до лечения.

Альфа-2-макроглобулин и плазмин определяли методом ракетного иммуноэлектрофореза [2].

IgG определяли иммунотурбидиметрическим методом, с использованием реактивов и калибратора Spinreact (Испания).

Концентрации IL-1 β , IL-6 и TNF α определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем (ProCon, Россия).

Иммуноферментный анализ использовался и для количественного определения МГ-IgG [1, 5], однако, в отличие от оригинальной методики мы использовали разведения образцов не в 2, а в 40 раз, вследствие предполагаемо высокого уровня аутоантител при РА. Кроме того, мы использовали внешнюю калибровку, где в качестве первичных антител служили высокоочищенные антитела против IgG человека в разведении до 10 мг/л, а в качестве калибратора – высокоочищенный IgG в девятиступенчатом разведении от 1,25 мкг/мл. В качестве вторичных антител как для образцов, так и для калибровки использовался конъюгат Fc фрагментов IgG с пероксидазой хрена, изготовленный согласно описанной ранее методике [5]. Разница фоновых значений между калибровкой и опытными образцами исключалась путем математического пересчета.

Аналогичным образом определялся уровень комплексов МГ-ПЛ. В качестве первичных антител использовались высокоочищенные антитела к плазмину (ПЛ), а в качестве вторичных – конъюгат антител к человеческому альфа-2-макроглобулину (МГ) с пероксидазой хрена, приготовленный аналогично вышеупомянутой методике. Для количественного определения комплексов использовалась внешняя семиточечная калибровка, построенная при помощи

аффинно очищенных антител к МГ в качестве первого слоя, высокоочищенного МГ в семиступенчатом разведении от 1,5 мкг/мл в качестве калибратора и конъюгата антител к МГ с пероксидазой хрена в качестве второго слоя. Остальные детали методики, включая разведение образцов, удаление разницы фоновых значений между калибровкой и опытными образцами и проявление реакции 2Н серной кислотой были аналогичны с описанной ранее методикой количественного определения МГ-IgG [5]. Специфичность обеих методик соответствовала общепринятым нормам для коммерческих тест-систем.

Уровень РФ-IgM измерялся в оптических единицах методом иммуноферментного анализа при использовании реактивов, предоставленных Вектор-Бест (Россия).

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи сертифицированной РС программы для биостатистики InStat 2.0 (Sigma, США) Параметры, приводимые в работе, имеют следующее обозначение: М – среднее, m – ошибка средней, n – объем анализируемой выборки, r – коэффициент корреляции, p – достигнутый уровень значимости. Проверка нормальности распределения признаков проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Межгрупповое сравнение показателей производилось при помощи ANOVA теста, корреляционный анализ проводился по критерию Пирсона. Критическое значение уровня значимости - 0,05.

Результаты

Содержание РФ-IgM фактора в крови пациентов страдающих ревматоидным артритом было повышено при всех трех степенях активности по сравнению с контролем ($p < 0,001$ во всех случаях). Выявлены

Табл. 1. КОНЦЕНТРАЦИИ В СЫВОРОТКЕ ИЗУЧЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ, ЦИТОКИНОВ, АЛЬФА-2-МАКРОГЛОБУЛИНА, IGG И ПЛАЗМИНА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ И РЕАКТИВНОМ АРТРИТЕ

Изученные показатели	Здоровые доноры, n=35	Реактивный артрит, n=15	Степени активности РА		
			1 степень, n=15	2 степень, n=20	3 степень, n=16
РФ-IgM (ед. опт. пл.)	0,341 $\pm$ 0,025	0,345 $\pm$ 0,069	1,071 $\pm$ 0,143	1,158 $\pm$ 0,105	1,537 $\pm$ 0,079
α_2 -МГ (г/л)	2,03 $\pm$ 0,06	1,89 $\pm$ 0,24	1,86 $\pm$ 0,19	2,08 $\pm$ 0,17	2,07 $\pm$ 0,17
α_2 -МГ-IgG (мкг/мл)	0,678 $\pm$ 0,047	1,271 $\pm$ 0,306	2,789 $\pm$ 0,481	11,423 $\pm$ 3,624	21,253 $\pm$ 6,302
α_2 -МГ-ПЛ (мкг/мл)	0,905 $\pm$ 0,052	1,481 $\pm$ 0,215	4,148 $\pm$ 1,072	4,451 $\pm$ 0,679	8,228 $\pm$ 1,770
IL-1 β (пкг/мл)	27,34 $\pm$ 2,11	102,09 $\pm$ 30,37	38,38 $\pm$ 8,25	108,52 $\pm$ 30,30	218,65 $\pm$ 48,02
IL-6 (пкг/мл)	4,65 $\pm$ 1,04	40,90 $\pm$ 8,32	65,42 $\pm$ 28,50	70,16 $\pm$ 11,34	75,28 $\pm$ 20,33
TNF α (пкг/мл)	43,91 $\pm$ 6,60	133,13 $\pm$ 30,51	78,64 $\pm$ 22,24	106,08 $\pm$ 13,46	356,46 $\pm$ 60,30
Плазмин (мкг/мл)	112,91 $\pm$ 2,66	106,30 $\pm$ 5,58	90,05 $\pm$ 6,20	92,76 $\pm$ 7,32	94,95 $\pm$ 4,71
IgG (г/л)	12,83 $\pm$ 0,34	17,71 $\pm$ 1,22	12,51 $\pm$ 0,72	15,58 $\pm$ 1,00	16,18 $\pm$ 1,09

различия между концентрацией данного иммунокомплекса при 1 и 2 ст РА ($p<0,01$), 2 и 3 ст РА ($p<0,05$). Кроме того, показатели, характерные для пациентов с РеА статистически значимо отличаются от данных, полученных для 2 и 3 ст РА ($p<0,001$ в обоих случаях). Абсолютное содержание РФ-IgM повышено у 80% больных при 1 ст РА, 91% при 2 ст, 100% при 3 ст и 13% при РеА.

Концентрация комплексов МГ-IgG в крови больных РА была значительно выше при 2 ст ($p<0,05$) и особенно 3 ст заболевания ($p<0,001$). Средний уровень данных комплексов при 1 ст РА не отличался статистически значимо от контрольных значений, но отличался от показателей, характерных для 3 ст ($p<0,001$). Содержание комплексов МГ-IgG при РеА было значительно ниже, чем при 3 ст РА ($p<0,001$), но не отличалось от группы контроля и 1 ст РА. Абсолютные показатели концентрации МГ-IgG превышали нормальные значения у 73% больных с 1 ст РА, 86% со 2 ст, 100% с 3 ст и только у 20% пациентов с РеА.

Сходная картина наблюдалась при изучении сыровороточных уровней комплексов МГ-ПЛ. Их концентрация росла при 1 ст ($p<0,05$) при 2 ст ($p<0,01$) и при 3 ст ($p<0,001$) по сравнению с контролем. Были выявлены статистически достоверные различия между 1 и 3 ст РА ($p<0,05$), 2 и 3 ст РА ($p<0,05$), а также между 3 ст РА и пациентами с РеА ($p<0,001$). Повышенное, по сравнению с нормой содержание данных комплексов было определено у 87% больных с 1 ст РА, 91% со 2 ст, 100% с 3 ст и у 33% больных с диагнозом РеА.

Изучение концентраций всех трех изученных цитокинов выявило практически одинаковые тенденции в изменении их сыровороточного содержания. Несмотря на большие индивидуальные колебания, уровень цитокинов неуклонно рос при усилении степени активности РА. Однако статистически достоверные различия в концентрациях TNF α были выявлены только при сопоставлении данных, характерных для 3 ст РА с контролем, 1 ст и 2 ст РА и РеА ($p<0,001$ во всех случаях). Уровни IL-1 β были статистически повышены при 3 ст РА, по сравнению со 2 ст ($p<0,05$), 1 ст РА ($p<0,001$) и с данными при РеА ($p<0,05$) и контролем ($p<0,001$), а концентрации IL-6 были значимо повышены только при 2 и 3 ст РА по сравнению с контролем ($p<0,05$ в обоих случаях). Абсолютные показатели содержания TNF α были выше нормы в 50%, 79%, 100% при 1, 2 и 3 ст РА соответственно и у 69% больных с РеА. Повышенный уровень IL-1 β был выявлен у 20% с 1 ст РА, 43% со 2 ст, 83% с 3 ст, 50% с РеА. Процент выявления повышенных по сравнению с нормой значений при изучении концентраций IL-6 был следующим – 80% при 1 ст, 100% при 2 и 3 ст РА, 92% при РеА.

Уровень общего сыровороточного IgG при 1 ст РА не отличался от нормы, а при 2 и 3 степенях достоверно повышался ($p<0,05$ и $p<0,01$, соответственно), как впрочем и при РеА ($p<0,01$). Изучение процента выявления повышенных уровней IgG при вышеупомянутых заболеваниях продемонстрировало следующее: 1 ст РА – 13%, 2 ст РА – 36%, 3 ст РА – 41%, РеА – 57%.

Концентрации общего сыровороточного плазмينا при менее выраженных степенях активности были несколько ниже нормы ($p<0,01$) при 1 ст РА и ($p<0,05$) при 2 ст РА, а при 3 степени активности РА его уровень не отличался от нормальных показателей. Сопоставление уровня общего плазмينا при РеА с содержанием данного белка в норме и при РА не выявило достоверных различий.

Среднестатистические значения общего содержания сыровороточного МГ при РА и РеА не отличались от нормальных показателей, однако анализ индивидуальных показателей выявил гораздо большие индивидуальные колебания в группах больных, по сравнению с контрольной группой. В 7% при 1 ст РА, в 18% при 2 ст РА, в 29% при 3 ст РА и 20% при РеА было выявлено повышение уровня МГ, по сравнению с нормой, а в 27% при 1 ст РА, 14% при 2 ст РА, 12% при 3 ст РА и 20% при РеА, напротив, зафиксировано пониженное, по сравнению с нормой содержание МГ в крови.

Обсуждение

Присутствие комплексов МГ-IgG в крови всех без исключения здоровых доноров в небольших концентрациях, но с весьма незначительными индивидуальными колебаниями, позволяет предположить, что данные комплексы не являются артефактами и, весьма вероятно, играют определенную роль в регуляции иммунного ответа. Чрезвычайно высокий уровень корреляции концентрации комплексов МГ-IgG и уровней МГ-ПЛ, выявленный при нашем исследовании, позволяет выдвинуть следующее предположение о роли МГ-IgG в иммунном ответе.

Известно, что МГ, после связывания с протеиназами, приобретает не только возможность связывать дополнительные регуляторные субстанции [8], но и очень короткий период полувыведения (не более 5 мин) образованных комплексов из циркуляции [13]. Однако определенная часть комплексов МГ-ПЛ все же остается в циркуляции, как в норме, так и при развитии различных патологий [8, 15]. Показано, что уровень МГ-ПЛ в сыроворотке крови повышается при сепсисе, эмфиземе, периодонтите, ревматоидном артрите и некоторых других воспалительных заболеваниях [18]. Этот феномен некоторыми авторами объясняется тем, что молекула макроглобулина, нативная, либо в комплексе с протеиназой, повреждается супероксидными анионами и гипохлоридопосредованными продуктами окисления, образующимися при активации нейтрофилов во время острого воспаления [14]. По крайней мере, установлено, что МГ, выделенный из синовиальной жидкости при ревматоидном артрите, сильно окислен и обладает сниженной функциональной активностью [19]. Такая поврежденная молекула МГ обладает не только сниженной способностью ингибировать протеиназы, но и низкой аффинностью к LRP - специфическому рецептору МГ [17]. В то же время показано, что подобное окисление ни в коей мере не влияет на способность МГ связываться с сигнальными Fc рецепторами и запускать активацию макрофагов [17].

Более того, экспрессия МГ сигнальных рецепторов усиливается в культурах синовиальных фибробластов, полученных от пациентов с ревматоидным артритом, по сравнению с контролем [12]. Таким образом, мы считаем, что антитела к молекуле МГ и образуемые МГ-IgG комплексы являются звеном раннего иммунного ответа на инвазию внешнего патогена, либо избыточную пролиферацию собственных клеток. Апоптоз клеток и локальный выброс продуктов, обладающих свойствами окислителей, провоцирует локальное накопление окисленного МГ либо комплексов МГ-протеиназы в зоне поражения. Образование тройных комплексов ПЛ-МГ-IgG и определенное превышение нормальных уровней данных комплексов в зоне поражения, вполне может служить пусковым механизмом активации макрофагов через сигнальные Fc рецепторы для защиты от внешней либо внутренней инвазии, в то время как специфический иммунный ответ еще не успел развиваться. По крайней мере, высокая коррелятивная зависимость МГ-IgG и МГ-ПЛ делает это предположение весьма вероятным.

Однако развитие данного неспецифического механизма может иметь весьма неприятные последствия для людей с врожденными дефектами синтеза МГ. Показано, что вариации гена МГ связаны со степенью тяжести РА, а носители генотипа с делециями гена, кодирующего МГ относятся к группе риска развития раннего активного и тяжелого РА [20]. Мы предполагаем, что накопление комплексов МГ-IgG при каком-либо серьезном либо длительном инфекционном заболевании у людей с врожденным дефектом синтеза МГ приводит избыточному накоплению вышеупомянутых комплексов в циркуляции. Обнаруженное нами увеличение концентраций МГ-IgG и МГ-ПЛ даже при реактивном артрите и при 1 ст РА, на фоне неизменных концентраций общего сыровороточного МГ и слабых корреляций между уровнем МГ-IgG и общим содержанием МГ (МГ-ПЛ и вовсе не коррелирует с общим МГ), позволяют предположить, что накопление комплексов связано именно с накоплением дефектных форм, а не с усилением синтеза МГ. Учитывая, что именно МГ-ПЛ комплексы являются основными переносчиками TNF α , IL-1 и IL-6 объяснимым становится и одновременное накопление этих цитокинов при РА, обнаруженное при нашем исследовании, хотя в норме TNF α и IL-1 находятся в антагонистических отношениях с IL-6. Увеличение количества МГ-IgG комплексов, на фоне снижения аффинности к LRP и усиления экспрессии Fc-сигнальных рецепторов, по всей видимости, приводит не только к активации макрофагов и последующему синтезу провоспалительных цитокинов, но и к определенной задержке в утилизации транспортируемых МГ цитокинов, с последующим накоплением последних в циркуляции. Отсутствие корреляций между комплексами МГ-IgG либо МГ-ПЛ и изученными цитокинами может быть объяснено тем, что молекула МГ может связывать несколько цитокинов одновременно [4, 8], а также тем, что в циркуляции одновременно присутствуют как нормальные молекулы МГ с быстрым периодом полу-

выведения, так и длительно циркулирующие поврежденные формы. Отсутствие стопроцентной корреляции между МГ-IgG и МГ-ПЛ и несколько большая, по сравнению с уровнями МГ-IgG концентрация МГ-ПЛ в норме, при РеА и 1 ст РА подтверждает это предположение.

Чрезмерное накопление МГ-IgG и особенно ПЛ-МГ-IgG может иметь два серьезных последствия. Во-первых, эти крупные иммунотоксические комплексы (ведь в их составе дополнительно могут быть и цитокины) могут осаждаться на тканях мишенях. Частично сохраненная литическая активность плазмينا в составе комплексов (молекула МГ никогда не ингибирует связанные протеиназы полностью [13]) приводит к повреждению клеток микроокружения, а цитокины активируют специфический клеточный иммунный ответ. Гибель клеток и выброс их содержимого приводит не только к дополнительному образованию дефектных форм МГ в зоне воспаления, но и к образованию аутоантител на ранее недоступные антигены. Показательно, что в отличие от МГ-IgG комплексов, значительное накопление РФ-IgM обычно наблюдается только через полгода, а то и год, после инициации РА [6]. Таким образом, процесс принимает формы каскадного развития с последующим расширением зоны поражения и увеличением количества очагов, благодаря все большему увеличению повреждающих МГ-IgG и других агентов в циркуляции.

К другим серьезным последствиям может привести способность организма образовывать аутоантитела не только на видоизмененный носитель белков, такой как МГ, но и на все белки, транспортируемые данным носителем. Нами показано, что если в норме, при РеА и 1 ст РА соотношение концентраций ПЛ-МГ и МГ-IgG примерно одинаково, то при 2 ст и особенно 3 ст РА количество МГ-IgG значительно увеличено, по сравнению с уровнями МГ-ПЛ. По всей видимости, все усиливающееся накопление поврежденных форм МГ в циркуляции провоцирует все более активный синтез антител к данному белку и, в конце концов, приводит к тому, что МГ, либо его окисленная форма, начинает восприниматься иммунными клетками как частично чужеродный носитель. В этом случае начинают образовываться аутоантитела ко всем субстанциям, транспортируемым МГ. Учитывая, что данный белок является переносчиком не только цитокинов, но и других белков широкого спектра от альбумина, липопротеинов и иммуноглобулинов до белков ядра клетки и даже генов, понятным становится наличие множества различных аутоантител с неизвестными функциями, обнаруживаемое при РА и большие индивидуальные колебания в содержании этих аутоантител. Видимо этим объясняется значительный рост уровней общего IgG при тяжелых стадиях РА, несмотря на относительно слабую корреляцию с концентрациями МГ-IgG и РФ-IgM, обнаруженную при нашем исследовании.

Так или иначе, мы считаем, что концентрация МГ-IgG может служить диагностическим критерием при дифференциальной диагностике РА. Высо-

кий процент выявления данных комплексов даже при 1 степени активности РА, по сравнению с реактивным артритом (73% при 1 ст и 20% при РеА), вполне сопоставим по чувствительности с ревматоидным фактором (80% и 13%, соответственно), являющимся общепризнанным маркером РА. Кроме того, концентрация комплексов МГ-IgG, равно как и МГ-ПЛ, может быть использована в качестве прогностического критерия при РА, либо для оценки эффективности проводимого консервативного лечения. Мы предполагаем, что дальнейшее изучение не общего сыровоточного и синовиального содержания провоспалительных цитокинов и других белков, но комплексов МГ с этими регуляторными субстанциями позволят ближе подойти к окончательному установлению этиологии данного заболевания, а также позволят разработать более эффективные методы диагностики и лечения РА.

Список литературы

1. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Зорин Н.А., Левченко В.Г., Горлина Н.К., Архипова С.В. Антигенспецифический способ определения иммунных комплексов белков семейства макроглобулинов с иммуноглобулином класса G в биологических жидкостях // Патент РФ №2209435 – Официальный бюллетень Росийского агентства по патентам и товарным знакам «Изобретения. Полезные модели» - 2003. – №21. – Ч.3. – С.598.
2. Зорин Н.А., Жабин С.Г., Лыкова О.Ф., Зорина Р.М., Горин В.С., Белогорова Т.И., Чирикова Т.С., Краюшкина Н.А. Белки плазмы и сыворотки крови доноров // Клин. Лаб. Диагн. – 1992. – №9-10. – С.13-15.
3. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г. Универсальный регулятор - α_2 -макроглобулин (Обзор литературы) // Клин. Лаб. Диагн. – 2004. – №11. – С.18-22.
4. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Универсальный модулятор цитокинов α_2 -макроглобулин // Иммунология – 2004. – №5. – С.302-304.
5. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г., Воронина Е.А., Зорин Н.А. Концентрация комплексов макроглобулин – IgG, как возможный критерий для прогнозирования гестоза и оценки степени его тяжести // Клин. Лаб. Диагн. – 2001. – №8. – С.48-49.
6. Насонова В.А., Астапенко М.Г. Клиническая ревматология. Руководство. – М: Медицина, 1989. – 592 с.
7. Armstrong P.B., Quigley J.P. α_2 -macroglobulin: an evolutionarily conserved arm of the innate immune system // Dev. Comp. Immunol. – 1999. – Vol.23. – P.375-390.
8. Birkenmeier G. Targetting the proteinase inhibitor and immune modulatory function of human α_2 -Macroglobulin // Mod. Asp. Immunol. – 2001. – Vol.2. – P.32-36.
9. Blass S., Engel J.M., Burmester G.R. The immunologic homunculus in rheumatoid arthritis. A new viewpoint of immunopathogenesis in rheumatoid arthritis and therapeutic consequences // Zeitschrift Fur Rheumatologie – 2001. – Vol.60. – P.1-16.
10. Dominguez M., Cacoub P., Garcia de la Torre I., Piette T.J., Salazar Paramo M., Godeau P., Anglees Cano E. Autoantibodies to receptor induced neopeptides of fibrinolytic proteins in rheumatic and vascular diseases // J. Rheumatol. – 2001. – Vol.28. – P.302-308.
11. Kramer P.R., Kramer S.F., Guan G. 17 beta-estradiol regulates cytokine release through modulation of CD16 expression in monocytes and monocytederived macrophages // Arthritis Rheum. – 2004. – Vol.50. – P.1967-1975.
12. Misra U.K., Gonzalez-Gronow M., Gawdi G., Pizzo S.V. Upregulation of the α_2 -macroglobulin signaling receptor on rheumatoid synovial fibroblasts // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol.272. – P. 497-502.
13. Petersen C.M. α_2 -macroglobulin and pregnancy zone protein. Serum levels, α_2 -macroglobulin receptors, cellular synthesis and aspects of function in relation to immunology // Danish Med. Bull. – 1993. – Vol.40. – P.409-446.
14. Stief T.W., Kropf J., Kretschmer V., Doss M.O., Fareed J. Singlet oxygen ((1)O₂) inactivates plasmatic free and complexed α_2 -macroglobulin // Thromb. Res. – 2000. – Vol.98. – P.541-547.
15. Tchertverikov I., Verzijl N., Huizinga T.W., TeKoppele J.M., Hanemaaijer R., DeGroot J. Active MMPs captured by α_2 -macroglobulin as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis // Clin. Exp. Rheumatol. – 2003. – Vol.21. – P.711-718.
16. Walsmith J., Roubenoff R. Cachexia in rheumatoid arthritis // Int. J. Cardiol. – 2002. – Vol.85. – P.89-99.
17. Wu S.M., Boyer C.M., Pizzo S.V. The binding of receptor-recognized α_2 -macroglobulin to the low density lipoprotein receptor-related protein and the α_2 M signaling receptor is decoupled by oxidation // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol.272. – P.20627-20635.
18. Wu S.M., Pizzo S.V. Mechanism of hypochlorite-mediated inactivation of proteinase inhibition by α_2 -macroglobulin // Biochemistry – 1999. – Vol.38. – P.13983-13990.
19. Wu S.M., Pizzo S.V. Alpha(2)-Macroglobulin from rheumatoid arthritis synovial fluid: functional analysis defines a role for oxidation in inflammation // Arch. Biochem. Biophys. – 2001. – Vol.391. – P. 119-126.
20. Zapico I., Coto E., Rodriguez A., Alvarez C., Torre J.C., Alvarez V.A. A DNA polymorphism at the α_2 -macroglobulin gene is associated with the severity of rheumatoid arthritis // J. Rheumatol. – 2000 – Vol.27. – P. 2308-2311.

поступила в редакцию 25.02.2005
отправлена на доработку 09.03.2005
принята к печати 18.03.2005