

УДК 577.15.08
©Л.В.Козлов

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ И ФАКТОРОВ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА.

Л.В.Козлов

ГУ Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского,
125212 Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, факс: (095)452-18-30;
эл. почта: L.V.Kozlov@mtu-net.ru

Разработка пригодных для клинических исследований гемолитических методов определения функциональной активности первых компонентов комплемента позволила продемонстрировать большую диагностическую ценность определения активности компонентов комплемента по сравнению с их содержанием как антигенов. Это предопределило необходимость в создании современных иммуноферментных тест-систем для количественного определения функциональной активности компонентов комплемента. Созданные впервые такие методы позволяют определять активность компонентов C1q, C2, C3, C4 (и соотношение изотипов C4A и C4B), C1-ингибитора, факторов В и D. Дополнение этих тест-систем иммуноферментными системами для определения количественного содержания компонентов, а в случае C1-ингибитора наличия IgG, IgA и IgM аутоантител против C1-ингибитора создает возможности оценки комплементарного статуса больного, врожденную предрасположенность к таким заболеваниям, как язва желудка, глаукома, хламидиоз, бактерионосительство, позволяет проводить дифференциальную диагностику ангионевротических отеков. Ингибирование ковалентного связывания C4b или C3b различными эндогенными и экзогенными эффекторами в ходе формирования C3- и C5-конвертаз позволяет понять процессы регуляции гомеостаза, а также механизма действия лекарственных соединений.

Ключевые слова: система комплемента, функциональная активность компонентов, гемолитические методы, иммуноферментные методы, C1q, C2, C3, C4, фактор В, фактор D, C1-ингибитор.

ВВЕДЕНИЕ. Функциональная активность компонентов комплемента является важным диагностическим критерием. Однако из-за отсутствия удобных для клинического применения методов определение функциональной активности компонентов комплемента не нашло пока своего места в клинической иммунологии и биохимии. В большинстве зарубежных клиник (как и свыше 20 лет назад) ограничиваются иммунохимическим определением компонентов C3 и C4, иногда, фактора В и C1-ингибитора и только изредка определяют общую гемолитическую (функциональную) активность (CH50) [1]. У нас в стране при возможности определяют C3 радиальной иммунодиффузией и CH50.

Поскольку определение количественного содержания в крови компонентов комплемента не выявляет существенных различий при различных заболеваниях и,

поэтому, кажется бесперспективным для дифференциальной диагностики, врачи не считали необходимым определять эти параметры. Единственно, к чему проявляется интерес врачей, это определение количества С1-ингибитора, врожденный дефицит которого, является причиной наследственного ангионевротического отека [2]. Однако и определение только количественного содержания этого белка недостаточно для дифференциальной диагностики отеков [3].

Гемолитический метод определения активности компонентов комплемента.

Около 15 лет назад нам удалось создать набор реагентов для определения комплементарного статуса больного - функциональной активности первых пяти компонентов классического пути активации комплемента [4-6]. Этими наборами обеспечивает потребности клиник Кировский НИИ гематологии и переливания крови. Использование набора реагентов при исследовании различных заболеваний показало, что функциональная активность компонентов комплемента является существенно более информативным критерием в деле диагностики. Это обусловлено прежде всего тем, что при многих заболеваниях (главным образом, аутоиммунной природы) изменяются соотношения биосинтеза и катаболизма компонентов комплемента, т.е. их обновление [7,8]. Такое явление должно сказываться на удельной активности компонентов и, тем самым, на абсолютной активности, поскольку содержание белка компонента как антигена меняется в меньшей степени. Это было показано в многочисленных работах, посвященных диабету [9-13], ревматическим заболеваниям [14], ожоговой болезни [15], аутоиммунному тиреоидиту [16], декомпрессионной болезни [17] и септическим состояниям. В этих исследованиях, кроме того, было обнаружено, что очень часто высокий уровень общей гемолитической активности СН50 является артефактом, поскольку в условиях проведения этой реакции может наблюдаться так называемый "реактивный" лизис, обусловленный не высокой активностью всех компонентов комплемента, а наличием реактивного комплекса С5b6, способного приводить к "свидетельскому" лизису. Такая высокая величина СН50 в этом случае говорит об острофазном состоянии больного, т.е. о реакции воспаления. Однако отличить острофазное состояние от высокой функциональной активности комплемента можно, лишь проведя определение всего комплементарного статуса.

Накопленный опыт по изучению комплементарного статуса больных различными заболеваниями позволяет дать некоторые рекомендации врачам для чтения комплементограмм.

Для получения комплементограммы проводят лизис сенсibilизированных кроличьими антителами бараньих эритроцитов раститрованной в виде прогрессивных двойных разведений сыворотки больного в присутствии соответствующего реагента (донорской сыворотки, лишенной определяемого компонента) для определения С1, С1q, С2, С3, С4, С5 или без реагента - для СН50 [5,6]. Аналогичные комплементограммы для определения функциональной активности факторов В и D альтернативного пути с использованием эритроцитов кролика и реагентов RB и RD менее изучены и, возможно, менее информативны вследствие редкости дефицита альтернативного пути комплемента и, по-видимому, меньшей его роли в патологиях.

Что касается определения активности классического пути, то первое, на чем необходимо остановиться, достаточно ли грубой оценки титра каждого компонента комплемента, получаемого в условиях раститровки сыворотки в виде двойных разведений. В действительности оказалось, что нормальная активность каждого компонента лежит в пределах двух разведений, т.е. между 50% и 200%, если за 100% принимать среднюю активность в пуле сывороток здоровых людей. Действительно это справедливо для многих белковых факторов, регуляторов и других систем организма (активность 25% и ниже, а также выше 200% приводит к патологическому состоянию или отражает его). Однако при мониторинге заболевания диагностическим критерием улучшения или ухудшения состояния больного являются снижение или увеличение титра каждого из компонентов

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА

относительно исходной или предыдущей величины, поскольку в этом случае индивидуальные особенности нивелируются. Удобной величиной для сравнения активности компонента комплемента является номер лунки половинного лизиса, наблюдаемого визуально без использования каких-либо измерительных приборов. Оказалось, что это достаточно объективная и стабильная величина, даже в больших пределах практически не зависящая от качества используемых реагентов и эритроцитов. Эта величина может быть легко пересчитана на титры (разведение сыворотки при половинном лизисе) или число эффективных молекул компонента (количество отверстий в эритроцитах, приводящих к их лизису, согласно "одноударному" механизму).

Второе обстоятельство касается объективности в определении активности компонентов комплемента с использованием этих реагентов. Следует отметить, что определение C1q, C2 и C4 носит объективный характер, так как реагенты R1q, R2 и R4 действительно дефицитны только по титруемым ими компонентам. Реагент R1 содержит пониженное количество C3 и других зуглобулинов, ингибирующих реактивный лизис. Поэтому у острофазных больных наблюдается как артефакт более высокая активность C1 (состоящего из C1q, C1r и C1s) по сравнению с C1q. Это обстоятельство может быть использовано для диагностики острофазного состояния и, как правило, всегда указывает на любой процесс воспаления, имеющего инфекционную, септическую или аутоиммунную природу. Более того, как только воспалительный процесс заканчивается, уровни активностей C1 и C1q, определяемые этим методом, сравниваются или C1q становится больше C1. Это происходит даже раньше снижения в крови содержания белков острой фазы.

Реагент R3 содержит пониженную концентрацию компонента C4, в связи с чем определение активности C3 целесообразно проводить не на сенсibilизированных эритроцитах (EA), а на комплексе EAC14, содержащем компонент C4, т.к. дефицит компонента C4 в сыворотке больного может приводить к неправильному определению активности C3.

Реагент R5 получают, активируя альтернативный путь, который может приводить к потреблению и других концевых компонентов (C6-C9). В связи с этим сниженная активность C5, определенная этим методом, может быть обусловлена дефицитом некоторых других компонентов мембраноатакующего комплекса.

Все эти недостатки и особенности гемолитического определения функциональной активности компонентов комплемента следует учитывать при чтении комплементограмм.

Первое, на что следует обратить внимание, анализируя комплементограмму, это соотношение активностей C1 и C1q. Более высокая активность C1 говорит о наличии острофазного состояния. Как правило, при этом наблюдаются более высокие значения CH50 по сравнению с активностью C2. В сыворотке крови активность компонента C2 самая низкая и она определяет общую гемолитическую активность CH50. Парадоксально высокая общая гемолитическая активность является артефактом, обусловленным "реактивным" лизисом при определении CH50 комплемента острофазных больных.

Удобно анализировать комплементарный статус больного, рассматривая комплементограмму - график, на котором нанесены активности всех определяемых компонентов комплемента. Индивидуальные особенности организма, а также патологическое воздействие на больного приводят к одновременному понижению или повышению активности всех компонентов комплемента, поэтому для более тонкой характеристики изменений полезно сравнивать активности компонентов комплемента относительно друг друга, что и создает профиль комплементограммы, характерный для той или иной нозологии.

Общее повышение активности всех компонентов комплемента характерно для многих аутоиммунных процессов, характеризует воспалительный процесс, индуцирующий повышенный биосинтез компонентов комплемента, вызванный

регуляцией по типу обратной связи повышенным их потреблением. Комплементограммы очень похожи при ревматоидных артритах, болезни Шегрена, склеротической и диабетической ангиопатиях [12,14,18] и даже обострениях при шизофрении [19]. Во многих случаях противовоспалительная терапия приводит к снижению активности компонентов комплемента и нормализации их уровня. При этом механизм действия различных типов препаратов различен. Цитостатики подавляют активность комплемента, снижая его биосинтез путем воздействия на клетки. Кортикостероиды также подавляют биосинтез. В обоих случаях активность комплемента может снижаться ниже нормального уровня, поэтому дозы препаратов должны подбираться индивидуально на основании данных анализов активности компонентов комплемента. Нестероидные противовоспалительные препараты могут действовать на сам процесс активации комплемента, блокируя образование C3- и C5-конвертаз, связываясь с активированными C4b и C3b. Поэтому снижается потребление комплемента и уменьшается количество продуктов активации компонентов комплемента, вызывающих повышенный биосинтез его белков. В результате такого действия нестероидные противовоспалительные препараты снижают активность компонентов до нормального уровня [14]. Таким же действием на систему комплемента обладают некоторые другие лекарственные препараты. Так, никотиновая кислота и никотинамид, благодаря своему действию на систему комплемента, полезны при лечении диабетических и склеротических ангиопатий [18]. Тем же свойством обладают интерфероны, обладающие противовоспалительными свойствами [20,21]. С другой стороны, побочное действие таких препаратов, как гидралазин, каптоприл и пеницилламин, вызывающих лекарственную волчанку, также объясняется их способностью воздействовать на систему комплемента [22,23].

Снижение активности всех компонентов комплемента иногда является характерным признаком некоторых заболеваний (например, системной красной волчанки, системной склеродермии), что может быть использовано для дифференциальной диагностики этих заболеваний, отличающих их от ревматоидного артрита. До сих пор не совсем ясно является ли низкая активность компонентов комплемента причиной этих заболеваний (врожденные или приобретенные дефициты) или их следствием. Низкая активность комплемента может быть следствием протекающих инфекционных или аутоиммунных процессов, а также заболеваний, поражающих ткани печени (например, гепатиты А и С). Существенное снижение активности всех компонентов комплемента наблюдается при терминальных фазах онкологических заболеваний, ВИЧ инфекции. На ранних стадиях рака, когда организм упорно борется с болезнью, уровень активности всех компонентов комплемента может быть высоким. В этой связи низкая активность комплемента является неблагоприятным прогнозом. Септицемия, осложняющая ожоговую болезнь, также протекает с пониженной активностью комплемента [15]. Повышение активности после стимуляции организма иммуномодуляторами свидетельствует о благоприятном исходе, а снижение - о неблагоприятном [15].

Иногда наблюдается нулевая активность всех или большинства компонентов комплемента, которая на самом деле является артефактом. В последнем случае это может выглядеть как отсутствие лизиса эритроцитов в первых разведениях сыворотки при определении активности комплемента гемолитическим методом, а затем появление гемолиза в нескольких последующих лунках. Такая картина наблюдается в присутствии в сыворотке каких-то ингибиторов комплемента (например, гепарина), а также при высоком уровне комплемент-ингибирующих циркулирующих иммунных комплексов.

Снижение активности компонентов C2 и C4 характерно для протекания инфекционного процесса, при котором активируется классический путь активации, а снижение активности C3 более характерно для инициации альтернативного пути.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА

Таким образом, на основании комплементограммы можно дифференцировать бактериальный эндокардит от ревматического. В первом случае наблюдается снижение активностей С2 и С4, а во втором на общем фоне высокой активности компонентов комплемента заметен высокий уровень С4. Вообще по неясным пока причинам относительно высокая активность С4 наблюдается при ревматизме и васкулитах. Существенное снижение активности С5 наблюдается при аутоиммунном тиреоидите (болезнь Хашимото) [16], что позволяет дифференцировать его от заболеваний неаутоиммунной природы, хотя часто дисфункции щитовидной железы сопровождаются понижением активности С5.

Гемолитический метод ввиду своей простоты, надежности, дешевизны и экспрессности оказался весьма полезным при диагностике и мониторинге многих заболеваний. Главным его недостатком является необходимость для проведения анализа эритроцитов барана, что ограничивает его клиническое применение. Кроме того, не все проблемы дифференциальной диагностики, связанные с функционированием системы комплемента, могут быть решены исключительно применением лишь гемолитического метода.

Иммуноферментные методы определения активности компонентов комплемента. Характерной особенностью системы комплемента является способность в ходе каскада ее активации к образованию комплексных протеолитических ферментов, иммобилизованных на поверхности мишени. Эти обстоятельства оказались благоприятными для изучения ферментативных процессов системы комплемента с использованием твердофазных методов с иммуноферментными способами обнаружения иммобилизованных участников ферментативного процесса.

В работах ряда авторов были описаны иммуноферментные методы изучения активации комплемента, однако они были предложены для обнаружения дефицитов комплемента, не носили количественного характера и не представляли возможности оценки функциональной активности индивидуальных компонентов комплемента в изолированном виде [24-26].

Перед нами стояла задача создания современных унифицированных методов определения функциональной активности индивидуальных компонентов комплемента как в сыворотке крови, так и в изолированном виде, что позволяло бы определять эту активность не только в крови, но и в других биологических жидкостях (например, в слюне), где содержание компонентов чрезвычайно мало и отсутствуют другие компоненты, необходимые для выявления активности определяемого.

В результате решения этой задачи были разработаны методы определения функциональной активности компонентов классического пути С1q [27], С2, С3 [28], С4 (обоих изоформ - С4А и С4В) [29], С1-ингибитора [30] и факторов альтернативного пути В и D [28]. Все эти системы легко дополняются обычными иммуноферментными системами типа "сэндвич" для определения количества соответствующих компонентов и факторов, что позволяет рассчитывать также их удельную активность. В рамках этих методов были разработаны также способы выявления действия веществ на систему комплемента на стадиях связывания С1q на мишени (ингибирования связывания С1q) [31] и образования С3- и С5-конвертаз (соответственно "перехват" активированных С4b [32] и С3b [33]). Два из этих трех способов ранее были решены с использованием гемолитического метода [21,34-36]. Кроме того, были созданы иммуноферментные тест-системы для определения аутоантител IgG, IgA и IgM классов к С1-ингибитору [30].

Для определения функциональной активности С1q на микропанели сорбируют иммуноглобулин G, а связавшийся на нем функционально активный С1q определяют с помощью конъюгата анти-С1q антител с ферментом [31]. Ингибируя процесс связывания С1q на IgG, в рамках того же метода можно оценить константу ингибирования (диссоциации ингибитора с С1q). При этом было показано совпадение данных, полученных иммуноферментным методом и на животной модели [31].

Этиология ангионевротических отеков (а отсюда и схема их лечения) может быть различна. В целом ангионевротические отеки делятся на четыре категории: наследственные ангионевротические отеки (НАО), приобретенные, аллергии и васкулиты [3]. Установить причину наследственных и приобретенных отеков позволяют анализы функциональной активности компонентов комплемента, количества и активности С1-ингибитора, наличия (или отсутствия) аутоантител к С1-ингибитору. НАО бывают двух типов: I тип (85% случаев) обусловлен нарушением биосинтеза белка, что приводит к снижению до 5-30% от нормы количества и функциональной активности С1-ингибитора; при II типе (15% случаев) нарушена структура самого белка из-за точечных мутаций в области активного центра. При этом количество белка бывает, как правило, нормальным, но существенно снижена его функциональная активность.

Была поставлена задача разработки удобных иммуноферментных методов определения количества и функциональной активности С1-ингибитора, а также наличия аутоантител к нему. С1-ингибитор (ингибирующий С1г и С1s), относящийся к классу серпинов, прочно связывается с ингибируемыми (иммобилизованными на иммунном комплексе) ферментами. Сорбция очищенных ферментов активированного субкомпонента С1s (или плазмина) на микропанелях позволяет специфически связывать в лунках планшета С1-ингибитор из сыворотки крови и с помощью конъюгата антител против С1-ингибитора с пероксидазой хрена определять количество связавшегося функционально активного С1-ингибитора. Дополнение этой тест-системы обычной иммуноферментной системой для определения количественного содержания С1-ингибитора в сыворотке, а также системами для определения IgG, IgA и IgM аутоантител против С1-ингибиторов завершает создание необходимого набора методов дифференциальной диагностики [30].

В составе комплексных протеолитических ферментов - С3-конвертаз классического (С4bС2a) и альтернативного (С3bВb) путей комплемента собственно протеиназами являются активированные компонент С2 (С2a) и фактор В (Вb). Превращение этих белков в активированные ферменты осуществляют субкомпонент С1s (в составе компонента С1 активирует С4 и С2) и фактор D (находится в крови в активированном состоянии).

Следует отметить, что при активации компонента С4 его активированная форма С4b способна ковалентно связываться с активатором, благодаря экспонированию тиолсложноэфирной связи. При этом, если в составе активатора преобладают белки (например, иммуноглобулины), то иммобилизуется преимущественно изотип С4А, а если углеводы (активация классического пути липополисахаридом), то изотип С4В. Эти особенности были положены в основу разработанного метода изотипирования. Клиническое применение метода изотипирования позволило получить данные о роли врожденных дефицитов отдельных изотипов в предрасположенности к бактерионосительству, язве желудка, глаукоме [37,38].

Существенной особенностью С3-конвертаз является то, что их субстрат С3 после протеолитического расщепления превращается в активированный С3b, также несущий на своей поверхности активную тиолсложноэфирную группу, способную ковалентно связываться с нуклеофильными акцепторами, что приводит к иммобилизации этого продукта протеолиза вблизи активирующего фермента.

Каскадный характер активации системы комплемента позволяет, искусственно создавая дефициты отдельных компонентов в экспериментальной системе и определяя иммуноферментным способом ковалентную иммобилизацию компонента, стоящего позже в процессе активации, определять функциональную активность любого из предшествующих компонентов, дефицит к которому создан. Использование такого приема привело к созданию иммуноферментных тест-систем для определения функциональной активности компонентов С2 и С3 классического пути и факторов В и D альтернативного пути [28].

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА

Ингибирование ковалентного связывания C4b или C3b различными эндогенными и экзогенными эффекторами в ходе формирования C3- и C5-конвертаз позволяет понять процессы регуляции гомеостаза, а также механизма действия лекарственных соединений [32,33].

Разработанные методы позволяют исследовать механизмы функционирования системы комплемента, ингибирование процессов каскада активации эндогенными и экзогенными ингибиторами, а также обнаруживать функциональный дефицит компонентов в сыворотке крови и других биологических жидкостях, что способствует диагностике заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kirschfink M.* (1998) In: *The Complement System* (Rother K., Till G.O., Hansch G.M., eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp.523-547.
2. *Йегер Л.*(ред.) (1986) Клиническая иммунология и аллергология. "Медицина", Москва, 1, 368-369.
3. *Кира А.* (1997) In: *Clinical Immunology* (Bradley J., McCluskey J., eds.), Oxford University Press, Oxford, New York, Melbourne, pp. 122-137.
4. *Козлов Л.В., Крылова Ю.И., Чих В.П., Молчанова Н.Н.* (1982) *Биоорганическая химия*, **8**, 652-659.
5. *Вавилова Л.М., Козлов Л.В., Голосова Т.В.* (1984) *Лаб. дело*, **12**, 743-746.
6. *Козлов Л.В., Вавилова Л.М., Голосова Т.В.* (1985) *Иммунология*, № 3, 66-68.
7. *Charlesworth J.A., Peake P.W., Golding J., Pussell B.A., Timmermans V., Wicks I., Wakefield D.* (1989) *Aust N. Z. J. Med.*, **19**, 118-124.
8. *Charlesworth J.A., Peake P.W., Golding J., Mackie J.D., Pussell B.A., Timmermans V., Wakefield D.* (1989) *Ann. Rheum. Dis.*, **48**, 153-159.
9. *Kozlov L.V., Ageev V.P., Sizoj M.N., Dedov I.I., Shamkhalova M.Sh., Abugova I.A.* (1990) *Complement and Inflammation*, **7**, 155-156.
10. *Козлов Л.В., Агеев В.П., Сизой М.Н., Мельник Е.И., Дедов И.И., Шамхалова М.Ш., Абугова И.А.* (1991) *Клин. мед.*, № 3, 60-64.
11. *Козлов Л.В., Агеев В.П., Сизой М.Н., Бескова Н.С., Дедов И.И., Шамхалова М.Ш., Абугова И.А.* (1992) *Пробл. Эндокринолог.*, **38**, 12-14.
12. *Козлов Л.В., Дедов И.И., Шамхалова М.Ш.* (1992) *Пробл. Эндокринолог.*, **38**, 57-60.
13. *Шамхалова М.Ш., Абугова И.А., Шишко П.И., Дедов И.И., Козлов Л.В., Алешкин В.А., Розина М.Н.* (1993) *Пробл. Эндокринолог.*, **39**, 16-20.
14. *Козлов Л.В., Кудряшова Л.П., Иванова И.В.* (1994) *Клин. мед.*, № 5, 43-47.
15. *Голосова Т.В., Вавилова Л.М., Панченков Н.Р., Козлов Л.В., Мурадян Р.И.* (1985) *Клин. мед.*, **63**, № 2, 118-122.
16. *Вавилова Л.М., Горделадзе М.Р., Козлов Л.В., Голосова Т.В., Жуковский М.А.* (1987) *Педиатрия*, № 3, 25-29.
17. *Катунцев В.П., Козлов Л.В., Щербакова М.А., Агеев В.П., Сизой М.Н.* (1993) *Авиакосмическая и экологическая медицина*, **27**, 22-28.
18. *Козлов Л.В., Бургова Н.С., Лоскутов И.А.* (1997) *Иммунология*, № 2, 55-60.
19. *Щербакова И.В., Нешкова Е.А., Доценко В.Л., Козлов Л.В., Мишин А.А., Платонова Т.П., Щербакова Е.Г., Яровая Г.А.* (1998) *Ж. неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*, **98**, № 6, 38-41.
20. *Lebedeva T.V., Kozlov L.V.* (1997) *Russian J. Immunol.*, **2**, № 2, 129-134.
21. *Козлов Л.В., Лебедева Т.В.* (1998) *Биоорганическая химия*, **24**, 350-355.
22. *Edmonds S., Gibb A., Sim E.* (1993) *Biochem. J.*, **289**, 801-805.
23. *Sim E., Law S.K.* (1985) *FEBS Lett.*, **184**, 323-327.
24. *Zwirner J., Felber E., Reiter C., Riethmuller G., Feucht H.E.* (1989) *J. Immunol. Methods*, **124**, 121-129.

25. *Fredrikson G.N., Truedsson L., Sjöholm A.G.* (1993) *J. Immunol. Methods*, **166**, 263-270.
26. *Zwirner J., Dobos G., Gotze O.* (1995) *J. Immunol. Methods*, **186**, 55-63.
27. *Козлов Л.В., Дьяков В.Л., Баталова Т.Н., Гузова В.А., Лысакова С.В.* (2000) Патент 2144676. Бюллетень изобретений, № 2, 20.01.2000.
28. *Романов С.В., Козлов Л.В., Дьяков В.Л., Баталова Т.Н., Гузова В.А.* (2002) Вопросы медицинской химии, **48**, (в печати).
29. *Козлов Л.В., Лахтин В.М., Скороходова Т.Г., Баталова Т.Н., Шойбонов Б.Б., Дьяков В.Л., Гузова В.А., Матвеевская Н.С.* (2000) *Биоорган. химия*, **26**, 539-547.
30. *Андина С.С., Козлов Л.В., Дьяков В.Л.* (2002) *Вопр. мед. химии*, **48**, (в печати).
31. *Козлов Л.В., Белкин З.П., Бичучер А.М., Баталова Т.Н., Дьяков В.Л.* (2002) *Вопр. мед. химии*, **48**, (в печати).
32. *Козлов Л.В., Лахтин В.М., Скороходова Т.Г., Баталова Т.Н., Шойбонов Б.Б., Дьяков В.Л., Гузова В.А., Матвеевская Н.С.* (2000) *Биоорган. химия*, **26**, 817-824.
33. *Козлов Л.В., Лахтин В.М., Баталова Т.Н., Гузова В.А., Дьяков В.Л., Романов С.В.* (2000) *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*, **41**, № 6, 88-90.
34. *Козлов Л.В., Сизой М.Н., Зинченко А.А., Левковский А.В.* (1986) *Биохимия*, **51**, 707-718.
35. *Козлов Л.В., Ростовцева Л.И., Ломака Т.С., Сутовская Н.С.* (1985) *Биоорган. химия*, №11, 762-768.
36. *Козлов Л.В., Ростовцева Л.И., Ломака Т.С., Сутовская Н.С., Сорокина И.Б., Баркова Т.И.* (1985) *Биоорган. химия*, №11, 1510-1518.
37. *Козлов Л.В., Скирда Т.А., Скороходова Т.Г., Лахтин В.М., Баталова Т.Н., Гузова В.А.* (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**, 103-110.
38. *Логинов А.Ф., Максимова И.Д., Козлов Л.В.* (2000) *Гастробюллетень*, № 1-2, 51.

Поступила 17.06.2002.

DETERMINATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF COMPONENTS AND FACTORS OF THE HUMAN COMPLEMENT.

L.V.Kozlov

G.N.Gabrichesky Moscow scientific research institute of epidemiology and microbiology, 125212 Moscow, street of Admiral Makarova, 10, fax: (095)452-18-30; e-mail:L.V.Kozlov@mtu-net.ru

Development suitable for clinical researches of hemolytic methods of determination of functional activity of the first components of a complement has allowed to show diagnostic value of testing activity of complement components in comparison with their contents as antigens. It has predetermined necessity for building modern ELISA tests-systems for quantitative determination of functional activity of complement components. Such methods built for the first time allow to determine activity of components C1q, C2, C3, C4 (and a ratio of isotypes C4A and C4B), C1-inhibitor, factors B and D. Addition of these tests-systems ELISA systems for quantitative determination of components, and in case of C1-inhibitor of presence IgG, IgA and IgM autoantibodies against C1-inhibitor frames opportunities of an evaluation complement status of the patient, hereditary predisposition to such diseases as a stomach ulcer, the glaucoma, a clamidiosis, bacteroidosis, allows to carry out differential diagnostics of angioedema. Inhibition of covalent linkage C4b or C3b various endogenic and exogenous effectors during formation C3- and C5-convertases allows to understand processes of a regulation of a homeostasis, and also the mechanism of action of drugs.

Key words: complement system, functional activity of components, hemolytic methods, ELISA, C1q, C2, C3, C4, factor B, factor D, C1 inhibitor.