

УДК 616-097-616-008.84 616.858
©Коллектив авторов

ИНТЕРФЕРОН-ГАММА, ИДИОТИПИЧЕСКИЕ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АУТОАНТИТЕЛА К НЕМУ ПРИ ПИОДЕРМИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

*С.Г. Морозов^{1,2} Е.Н. Волкова³ Б.Б.Гнеденко¹
Б.Б.Проценко¹ В.С.Федюкин⁴*

¹ГУЗ ГKB № 29 Департамента здравоохранения Москвы,
111020, Москва, Госпитальная площадь, д. 2; тел.: (095) 263-16-28;
²ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва,
³Российский государственный медицинский университет, Москва,
⁴ГНЦ прикладной микробиологии Минздрава РФ.

С помощью твердофазного иммуноферментного анализа проанализировано 80 образцов сыворотки пациентов с пиодермиями различной этиологии на содержание гамма-интерферона (ИФ- γ), идиотипических аутоантител (а-АТ) к нему, а также соответствующих антиидиотипических антител (АИАТ) и соотношение а-АТ/АИАТ. Корреляция между сывороточным уровнем самого ИФ- γ и уровнем а-АТ к нему отсутствовала. С нарастанием тяжести заболевания наблюдали повышение содержания исследуемых а-АТ и снижение АИАТ. С увеличением длительности заболевания отмечалось снижение сывороточных уровней а-АТ и АИАТ к ИФ- γ . Соотношение а-АТ к ИФ- γ /АИАТ к ИФ- γ увеличивалось как с длительностью, так и с тяжестью течения болезни. Это свидетельствует о том, что чем больше времени течет заболевание и чем более выражена его тяжесть, тем более выражено соотношение идиотип-антиидиотип с направленностью к ИФ- γ , смещенное в сторону а-АТ.

Ключевые слова: интерферон-гамма, аутоантитела, антиидиотипические антитела, пиодермия.

ВВЕДЕНИЕ. Резистентность организма к инфекциям во многом обусловлена секрецией провоспалительных цитокинов [1] и факторами, влияющими на их активность. По мнению ряда авторов [2], ведущее место в формировании как гуморального, так и клеточного антимикробного иммунитета принадлежит гамма-интерферону (ИФ- γ) и фактору некроза опухолей-альфа (ФНО α), активность которых во многом определяет интенсивность течения воспалительного процесса.

Известно, что активность цитокинов может регулироваться растворимыми цитокинесвязывающими факторами и ингибиторами [3]. Среди них важную роль играют аутоантитела к цитокинам.

Согласно сетевой теории Jerne [4], иммунная система здорового человека продуцирует идиотипические (а-АТ) и антиидиотипические (АИАТ) естественные антитела ко всем антигенам собственного организма, которые являются составными частями иммунной сети и принимают участие практически во всех процессах, происходящих в организме [5] (приведенные сокращения несколько условны, т.к., строго говоря, АИАТ тоже являются аутоантителами).

Описаны естественные а-АТ к ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО α . При самых различных инфекционных и аутоиммунных заболеваниях титр а-АТ к цитокинам возрастает, однако во многом это зависит от характера патологического процесса. [3]. Вслед за ростом сывороточных уровней цитокинов растет уровень и соответствующих а-АТ, которые обычно высокоаффинны и играют большую роль в регуляции активности самих цитокинов. Роль эта может быть двоякой. Как правило, такие а-АТ тормозят действие цитокинов. Однако при определенных условиях они могут выступать и в роли протекторов цитокинов, предохраняя их от протеолитического разрушения, и являются, таким образом, как бы носителями цитокинов в крови [6]. В то же время есть основания утверждать, что их роль этим не ограничивается. Так, в эксперименте показано [7], что а-АТ к ИФ- γ ингибируют продукцию этого цитокина спленоцитами. Кроме того, они ингибируют индуцируемую самим ИФ- γ экспрессию макрофагами молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) и индуцируемую ФНО α пролиферацию тимоцитов.

В литературе мы не обнаружили работ, касающихся АИАТ к цитокинам и соответственно идиотип-антиидиотипического равновесия антител к цитокинам при какой-либо патологии. В то же время это направление представляется очень перспективным, т.к. если а-АТ влияют на активность цитокинов, то и соответствующие АИАТ, связывающие их вариабельные участки, тоже должны влиять на их активность, а тем самым и на клиническую картину самого заболевания. Поэтому исследование данных механизмов позволит глубже понять процессы регуляции активности цитокинов и разработать новые эффективные методы коррекции, направленные на повышение иммунореактивности организма.

Цель настоящего исследования состояла в комплексном исследовании сывороточных уровней а-АТ и АИАТ к ИФ- γ , а также идиотип-антиидиотипического равновесия при пиодермиях различной этиологии, а также их влияния на клиническую картину заболевания. В литературе есть указания на то, что в развитии воспаления при пиодермиях важная роль принадлежит провоспалительным цитокинам [8]. В то же время роль ИФ- γ и антител к нему при данной патологии остается неизученной.

МЕТОДИКА. Определение сывороточного уровня ИФ- γ у больных с пиодермиями проводили с помощью наборов фирмы "Amersham" (США). Препарат ИФ- γ получали из ГНЦ прикладной микробиологии Минздрава РФ.

Поликлональные антитела к ИФ- γ и их F(ab) $_2$ -фрагменты, а так же АИАТ к ИФ- γ получали по методикам, описанным ранее [9].

Были разработаны стандартные твердофазные иммуноферментные тест-системы для определения а-АТ и АИАТ к ИФ- γ .

На полистироловые планшеты фирмы "Nunc" (Дания) наносили растворы ИФ- γ и F(ab) $_2$ -фрагментов кроличьих антител к ИФ- γ в 0,05 М карбонатном буфере рН 9,6 в концентрации 1-2 мкг/мл по 100 мкл в лунку. Инкубацию проводили при 4°C в течение 16 ч. Затем планшет отмывали от несвязавшейся части АГ отмывающим буфером, содержащим 0,05 % твин-20 и обрабатывали 0,05 % раствором желатины в течение 1 ч при 36°C. После этого наносили сыворотки исследуемых больных и здоровых доноров, разведенные в 200 раз. После инкубации в течение 17 ч при комнатной температуре планшет отмывали и наносили вторичные антитела - антивидовые IgG, конъюгированные с пероксидазой хрена ("Sigma", США). Реакцию проявляли о-фенилендиаминам/H $_2$ O $_2$ ("Диа-М", Россия) в концентрации 1 мг/мл. Определение оптической плотности проводили фотометрически при длине волны 490 нм.

Результаты исследования специфичности, точности, воспроизводимости и надежности тест-систем позволили сделать вывод, что они обладают такими качествами.

Калибровочные кривые иммуноферментного анализа определяемых а-АТ и АИАТ к ИФ- γ представлены на рис. 1-2. Для построения калибровочных кривых были использованы разведения образцов сыворотки здоровых доноров.

Результаты тестирования каждой сыворотки оценивали в процентах относительно реакции эталона, выраженной в единицах оптической плотности. В

ИНТЕРФЕРОН-ГАММА И АУТОАНТИТЕЛА К НЕМУ ПРИ ПИОДЕРМИЯХ

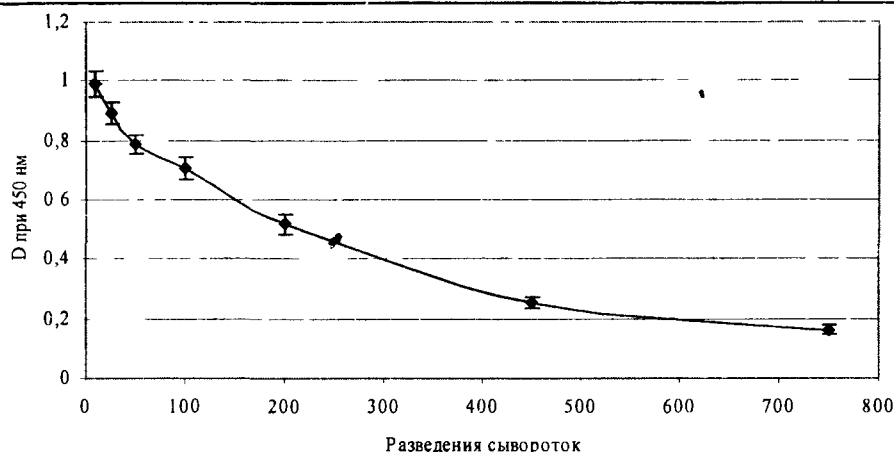


Рисунок 1

Анти-ИФ- γ иммунореактивность различных разведений сыворотки здорового донора, выраженная в единицах оптической плотности.

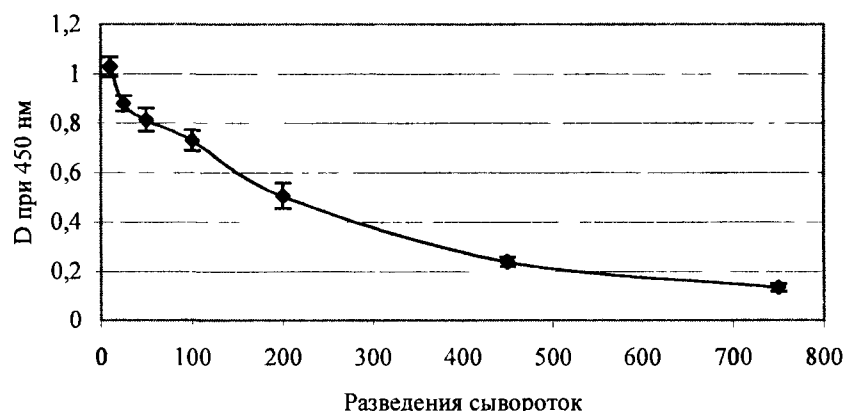


Рисунок 2

Иммунореактивность АИАТ к ИФ- γ различных разведений сыворотки здорового донора, выраженная в единицах оптической плотности.

качестве эталона использовали образцы сыворотки со средними уровнями а-АТ и АИАТ к ИФ- γ . Иммунореактивность эталона была принята за 100 %.

Проводили расчет коэффициента I, представляющего собой соотношение а-АТ/АИАТ.

При постановке конкурентного ИФА на планшеты иммобилизовывали кроличьи антитела к ИФ- γ при указанных выше условиях. После отмывки в лунки планшет вносили препарат ИФ- γ в возрастающих количествах - 25-400 нг/лунку в объеме 50 мкл, а также препарат полученных АИАТ к ИФ- γ в таком же объеме в количестве 25 нг на лунку. Инкубацию проводили в течение 16 ч. Далее ИФА проводили так как указано выше.

Для проведения аффинной хроматографии готовили иммуноадсорбенты, используя методику Weir [10]. Иммуноадсорбенты представляли иммобилизованные на носителе ИФ- γ и кроличьи антитела к нему. При проведении аффинной хроматографии использовали комплект аппаратуры фирмы "Pharmacia-LKB" (Швеция). При выделении АИАТ к ИФ- γ препарат дополнительно пропускали через колонку с иммобилизованным неиммунным кроличьим IgG.

Электрофорез в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия (ДСН) проводили по общепринятой методике с использованием аппаратуры этой же фирмы.

Иммуноблоттинг осуществляли с помощью аппаратуры этой же фирмы по стандартной методике с использованием нитроцеллюлозной бумаги [11]. В качестве субстрата использовали диаминобензидин.

Обследовано 80 пациентов (55 мужчин + 25 женщин) в возрасте от 19 до 57 лет с пиодермиями различной этиологии.

Группу 1 составили 17 пациентов (11 мужчин + 6 женщин) со стафилодермиями. Длительность заболевания составляла от 6 мес до 3 лет, тяжесть течения от 2 до 4 баллов.

Группа 2 состояла из 23 больных (15 мужчин + 8 женщин) с глубокими стрептодермиями. Длительность заболевания от 1 до 6 лет, тяжесть течения от 4 до 7 баллов.

В группу 3 вошли 40 пациентов (29 мужчин + 11 женщин) со смешанными стрепто-стафилодермиями. Длительность заболевания составляла от 6 до 15 лет, тяжесть течения от 5 до 10 баллов.

Тяжесть течения пиодермии оценивали по условной 10 бальной шкале: где 0 - отсутствие кожных высыпаний, 10 - степень выраженности симптомов максимальная.

Обследовано 307 образцов сыворотки здоровых доноров аналогичной возрастной группы.

Полученные данные анализировали с помощью пакета компьютерных программ Biostat (Pimer of Biostatistics Version 4.03). При обсчете результатов использовали метод линейной регрессии и корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Исследовано сывороточное содержание ИФ-γ у больных пиодермией различной этиологии. В норме его содержание в сыворотке не превышает - 20-40 пкг/мл [2]. Результаты тестирования представлены в таблице 1. Как в каждой из трех групп пациентов в отдельности, так и в целом, достоверного повышения содержания ИФ-γ не отмечалось.

Таблица 1. Сывороточные уровни ИФ-γ у больных с пиодермией.

	п	Количество образцов сыворотки с уровнем ИФ-γ, пкг/мл:			%
		до 40	40-100	выше 100	
Группа 1	17	15	1	1	11,8
Группа 2	23	21	2	-	8,6
Группа 3	40	35	3	2	12,5

Примечание. Группа 1 - пациенты со стафилодермиями, группа 2 - со стрептодермиями, группа 3 - со смешанными стрепто-стафилодермиями. п - количество образцов сыворотки; % - процент образцов с повышенным содержанием исследуемого цитокина.

Корреляции между содержанием ИФ-γ в сыворотке крови и такими клиническими показателями как тяжесть течения заболевания и длительность заболевания (табл. 3) были неоднозначны у обследуемых групп. Несмотря на то, что в целом уровень ИФ-γ в сыворотке крови достоверно не отличался от нормы, его содержание у больных 1 группы достоверно росло с увеличением времени с момента начала заболевания ($P=0,71$). В то же время никаких достоверных корреляций не было выявлено при сопоставлении сывороточного уровня данного цитокина и тяжестью течения стафилодермий. Во 2 группе наблюдали обратную картину. Содержание ИФ-γ у них было достоверно выше у клинически более тяжелых пациентов ($P=0,84$), причем здесь следует отметить очень сильную корреляционную связь. А зависимости между содержанием ИФ-γ и длительностью течения заболевания выявить не удалось. Для больных 3 группы какой-либо взаимосвязи между клинической картиной и сывороточным содержанием ИФ-γ не выявлено.

Далее с помощью разработанных тест-систем для определения а-АТ и АИАТ к ИФ-γ были проанализированы образцы сыворотки здоровых доноров и пациентов с пиодермиями.

Результаты тестирования образцов сыворотки здоровых доноров свидетельствовали о том, что в норме имеется определенный уровень специфических а-АТ и соответствующих АИАТ к ИФ-γ.

ИНТЕРФЕРОН-ГАММА И АУТОАНТИТЕЛА К НЕМУ ПРИ ПИОДЕРМИЯХ

Таблица 2. Содержание сывороточных а-АТ и АИАТ к ИФ-γ у больных с пиодермией.

Пара- метры	Группа 1		Группа 2		Группа 3	
	А-АТ к ИФ-γ	АИАТ к ИФ-γ	А-АТ к ИФ-γ	АИАТ к ИФ-γ	А-АТ к ИФ-γ	АИАТ к ИФ-γ
1	35%	53%	35%	53%	10%	33%
2	-	12%	9%	17%	10%	20%
3	125 ± 32	130 ± 44	129 ± 26	130 ± 34	105 ± 23	127 ± 43

Примечание: 1 - процент проб, в которых содержание исследуемых антител выше нормы; 2 - процент проб, в которых содержание исследуемых антител ниже нормы; 3 - среднее значение уровней исследуемых антител ± стандартное отклонение.

В литературе есть указания на содержание в норме АИАТ определенной специфичности. Так, в частности, в коммерческих препаратах суммарной фракции иммуноглобулинов класса G (IgG), применяемых для внутривенных инъекций, были обнаружены АИАТ к антителам к ДНК, к анти tireоглобулиновым антителам, к IgE, к антителам к фактору VIII системы свертывания крови и т.д. [12-14]. О присутствии определенного уровня а-АТ и АИАТ к ИФ-γ в норме данных мы не обнаружили. Поэтому было решено привести доказательства того, что выявляемые с помощью ИФА субстанции действительно являются специфическими а-АТ и АИАТ к ИФ-γ.

С этой целью были поставлены следующие эксперименты. С образцами сыворотки здоровых доноров провели иммуноаффинную хроматографию с иммобилизованным ИФ-γ и антителами к нему. С элюированными препаратами проводили диск-электрофорез в денатурирующих условиях с добавлением ДСН.

На электрофореграммах наблюдали полосы, соответствующие по молекулярным массам Н-цепям IgM и IgG, а также L-цепи. Последующее иммунопроявление с помощью блоттинга подтвердило предположение о том, что выявляемые полосы соответствуют указанным цепям иммуноглобулинов (данные не приведены). Полученные данные свидетельствовали в пользу того, что сыворотка здоровых доноров содержит определенный уровень а-АТ и АИАТ к ИФ-γ.

Для доказательства присутствия в сыворотке крови здоровых доноров определенного уровня АИАТ к ИФ-γ мы посчитали необходимым провести эксперимент, подтверждающий, что выявляемые субстанции являются также иммунохимическими аналогами антигена ИФ-γ, способными конкурировать с ним за связывание с идиотипами.

При постановке конкурентного иммуноферментного анализа выделенных субстанций (предположительно АИАТ к ИФ-γ) с самим ИФ-γ, было убедительно показано, что данные субстанции конкурируют с соответствующим цитокином за связывание с иммобилизованными специфическими идиотипическими антителами. В тоже время подобная конкуренция отсутствовала при добавлении таких цитокинов, как ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-8. На рисунке 3 представлено графическое изображение конкуренции ИФ-γ с полученными АИАТ к данному цитокину за связывание с иммобилизованными антителами к ИФ-γ.

В результате был сделан вывод о том, что сыворотка крови здоровых доноров содержит определенный уровень а-АТ и АИАТ к ИФ-γ.

Некоторое время считали, что естественные а-АТ являются низкоаффинными полиреактивными молекулами иммуноглобулинов класса M [15]. Однако позже было установлено, что около половины естественных а-АТ относятся к классу IgG, значительная часть этих молекул моноспецифична по своей антигенной направленности и их аффинность может достигать высоких значений [16, 17]. Данные литературы указывают на то, что АТ данного класса способны проникать через различные гистогематические барьеры и оказывать влияние на функциональное состояние клеток различных тканей [18].

С помощью разработанных тест-систем были проанализированы 307 образцов сыворотки здоровых доноров. "Границы нормальной

Таблица 3. Коэффициенты корреляции $R_{x,y}$ для пар тестируемых параметров в группах больных с пиодермией.

Пары тестируемых параметров (x,y)	Группа 1 (стафилодермии)	Группа 2 (стрептодермии)	Группа 3 (Смешанные стрепто-стафилодермии)
1,2	0,12	0,00	-0,06
1,3	-0,01	-0,03	-0,11
1,4	0,28	0,00	-0,04
1,5	0,71**	0,10	-0,17
1,6	0,50*	0,84**	0,41*
2,3	0,84**	0,65**	0,74**
2,4	-0,24	0,20	0,05
2,5	-0,53*	-0,24	-0,39*
2,6	0,41*	0,74**	0,50*
3,4	-0,70**	-0,58*	-0,53*
3,5	-0,53*	-0,36	-0,37
3,6	-0,41*	-0,44*	-0,39*
4,5	0,40*	0,34	0,39*
4,6	0,59*	0,41*	0,43*
5,6	0,20	0,50*	0,49*

Примечания: 1. Содержание ИФ-γ в сыворотке крови, пкг/мл; 2. Уровень а-АТ к ИФ-γ в сыворотке крови, % от реакции эталона; 3. Уровень АИАТ к ИФ-γ, % от реакции эталона; 4. Коэффициент а-АТ к ИФ-γ / АИАТ к ИФ-γ; 5. Длительность заболевания, лет; 6. Тяжесть течения заболевания, баллы. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

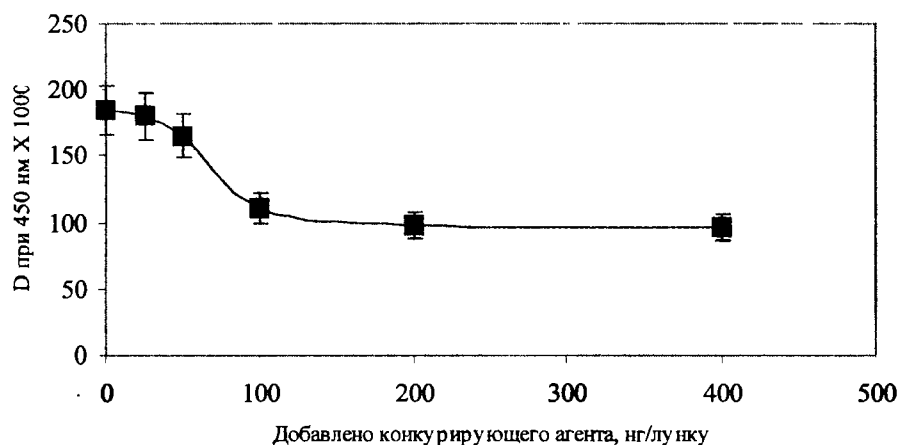


Рисунок 3.

Конкуренция между аффинно очищенными АИАТ к ИФ-γ и нативным ИФ-γ (возрастающие концентрации 25-400 нг/лунку) за связывание с адсорбированными антителами к ИФ-γ.

иммунореактивности" для а-АТ к ИФ-γ составили от 70 % до 135 %, а для АИАТ от 75 % до 140 % ($p < 0,05$). Таким образом, эти относительные "границы", во-первых, достаточно узкие, во-вторых, примерно одинаковые для а-АТ и АИАТ, что по-видимому, имеет свое физиологическое значение. Эти результаты согласуются с данными о "границах нормальной сывороточной иммунореактивности" а-АТ и АИАТ к ряду нейроантигенов [9], согласно которым эти относительные границы примерно такие же, как получили мы.

Для оценки степени равновесия системы а-АТ/АИАТ было введено такое понятие как коэффициент I , представляющий соотношение а-АТ/АИАТ. Он позволяет оценить степень "экранированности" а-АТ соответствующими АИАТ. Проведенное исследование показало, что в норме значения коэффициента I для системы идиотип-антиидиотип с направленностью к ИФ-γ, находятся в пределах

ИНТЕРФЕРОН-ГАММА И АУТОАНТИТЕЛА К НЕМУ ПРИ ПИОДЕРМИЯХ

0,8-1,2 ($p < 0,05$). Это свидетельствует о том, что в условиях физиологической нормы наблюдается определенное равновесие между а-АТ и соответствующими АИАТ.

С помощью разработанных тест-систем проанализированы образцы сыворотки всех 3 групп больных с пиодермиями различной этиологии. Как видно из таблицы 2, во многих исследуемых образцах сывороточное содержание определяемых а-АТ и АИАТ выходит за "границы" нормы, причем как в сторону повышения, так и снижения. Достоверное их повышение наблюдалось только в 1 группе ($p < 0,05$).

Из полученных результатов видно, что во всех группах больных наблюдается большой диапазон изменений уровней а-АТ и АИАТ к ИФ-γ - от их патологического повышения до аномального снижения. Аномальное снижение сывороточного содержания исследуемых а-АТ и АИАТ, по-видимому, является неопианным ранее патологическим состоянием, патофизиологическая значимость которого пока не ясна.

Задача последующего этапа работы состояла в изучении взаимосвязи исследуемых показателей - содержания сывороточного ИФ-γ, соответствующих а-АТ, АИАТ и коэффициента I - и клинической картины пиодермий во всех трех обследуемых группах, тяжести течения заболевания и его длительности. Коэффициенты корреляции для пар всех тестируемых параметров представлены в таблице 3.

Несколько неожиданно мы получили отсутствие корреляции между сывороточным уровнем самого ИФ-γ и уровнем а-АТ к нему во всех исследованных группах. Это противоречит данным Elkarim с соавторами [19], которые с помощью иммуноферментного анализа изучали сывороточное содержание цитокинов ИФ-γ и ИЛ-4 в сыворотке крови больных с инфекциями нижних дыхательных путей. Так, по данным этих авторов, наблюдалась обратная зависимость между уровнями данных цитокинов и а-АТ к ним. По данным этого же автора, при синдроме Гийена-Барре в разгар клинической картины наблюдается значительный подъем уровня ИФ-γ [20]. По мере выздоровления его уровень снижается, при этом наблюдался подъем а-АТ к нему класса IgG.

В то же время данные о взаимозависимости сывороточного содержания ИФ-γ и а-АТ к нему при различной патологии весьма противоречивы. Madariaga с соавторами исследовали содержание данного цитокина и соответствующих а-АТ при туберкулезной инфекции [21]. Они пришли к выводу о том, что у обследуемых пациентов сывороточный уровень исследуемых а-АТ в среднем был значительно выше, чем в норме, и их высокие уровни наблюдались при высоком содержании данного цитокина в крови.

Корреляционный анализ сывороточного уровня а-АТ к ИФ-γ и тяжести течения пиодермий показал отчетливую тенденцию к повышению содержания исследуемых а-АТ с нарастанием тяжести заболевания. Наиболее отчетливо данная зависимость прослеживалась во 2 группе, где $R_{x,y}$ составил 0,74. На предыдущем этапе работы было установлено, что и уровень самого ИФ-γ также повышался при более тяжелом течении у пациентов 2 группы. Что касается взаимосвязи между уровнем а-АТ к ИФ-γ и длительностью заболевания, то показана отчетливая тенденция к снижению продукции данных антител со временем, что было достоверно для 1 и 3 групп ($R_{x,y} = -0,53$ и $-0,39$ соответственно).

При анализе сывороточного уровня АИАТ к ИФ-γ установлено следующее. Их содержание не коррелировало с уровнем самого ИФ-γ ни в одной из групп, однако хорошо коррелировало с содержанием а-АТ к данному цитокину.

По-видимому, это объясняется тем, что продукция идиотипов стимулирует синтез соответствующих антиидиотипов, т.е. здесь налицо саморегулирующаяся иммунная сеть. По мере снижения продукции а-АТ специфические АИАТ приобретают способность влиять на иммунокомпетентные клетки [22]. В зависимости от концентрации а-АТ и АИАТ, а также от активности Т-клеток могут

реализоваться два противоположных эффекта: супрессия идиотипа и подавление продукции антител к определенной антигенной детерминанте, либо усиление продукции антител к антигену, причем это может быть даже в тот период, когда данный антиген уже элиминирован из организма за счет активации В-клеток памяти.

Интересная закономерность была обнаружена при изучении взаимосвязи уровней АИАТ к ИФ-γ с клиническим течением заболевания. С развитием болезни наблюдалась достоверная обратная корреляция во всех трех группах (так же как и а-АТ), т.е. со временем проходило снижение содержания АИАТ. С тяжестью течения заболевания так же наблюдалась достоверная обратная корреляция (в отличие от а-АТ к ИФ-γ) ($P_{xy} = -0,41; -0,44; -0,39$ в 1,2,3 группах соответственно). Это означает, что чем больше тяжесть заболевания, тем меньше в сыворотке содержится АИАТ к ИФ-γ. Подобный эффект можно объяснить "экранированием" не связанных а-АТ к ИФ-γ соответствующими специфическими АИАТ. Принимая во внимание тот факт, что а-АТ, связываясь с соответствующими цитокинами, часто нивелируют их действие, АИАТ к ИФ-γ могут конкурировать с самим цитокином за связывание с соответствующими а-АТ и тем самым меньшее количество ИФ-γ оказывается связанным.

В этом плане представляет большой интерес корреляционный анализ коэффициента I (а-АТ к ИФ-γ / АИАТ к ИФ-γ) с клиническим течением заболевания. Данный коэффициент заметно увеличивается как с длительностью ($P_{xy} = 0,40; 0,34; 0,39$ в 1,2,3 группах соответственно), так и с тяжестью течения болезни ($P_{xy} = 0,59; 0,41; 0,43$ в 1,2,3 группах соответственно). Это свидетельствует о том, что чем больше времени течет заболевание и чем более выражена его тяжесть, тем более отчетливо баланс идиотип-антиидиотип с направленностью к ИФ-γ смещен в сторону а-АТ.

Между сывороточным содержанием АИАТ к ИФ-γ и коэффициентом I наблюдали достоверную обратную корреляцию ($P_{xy} = -0,70; -0,58; -0,53$ в 1,2,3 группах соответственно). В то же время достоверная зависимость между сывороточным содержанием а-АТ к ИФ-γ и коэффициентом I отсутствовала. Создается впечатление, что значения данного коэффициента больше зависят не от продукции самих а-АТ, а от степени их "экранированности" соответствующими АИАТ.

Один из основных выводов, который следует из результатов проведенного исследования заключается в том, что наблюдаемое с течением времени падение сывороточных уровней а-АТ и АИАТ к ИФ-γ сопровождается, тем не менее, возрастанием коэффициента I, т.е. ростом относительного количества а-АТ к данному цитокину, не "экранированных" соответствующими АИАТ, что как раз и может быть связано с развитием более тяжелой клинической картины.

В литературе по клинической иммунохимии мы нашли лишь несколько работ, указывающих на важность сохранения баланса идиотип-антиидиотип. Одна из них касалась естественных а-АТ к фактору свертывания крови VIII. Авторы [23] подчеркивают важность поддержания системы идиотип-антиидиотип к данному фактору в равновесии и указывают на то, что если это равновесие нарушается, то развивается аутоиммунная реакция, имеющая неблагоприятные последствия для системы гемостаза. Еще одна работа указывает на необходимость поддержания идиотип-антиидиотипического равновесия с направленностью к ДНК. Сдвиги этого равновесия приводят к развитию аутоиммунных реакций [24].

Аналогичные исследования по изучению соотношения идиотип-антиидиотип, но с направленностью к белкам нервной ткани, проводили при болезни Паркинсона [25]. Был сделан вывод о корреляции между увеличением соотношения а-АТ/АИАТ к белку мозга S100 (но не уровнями а-АТ и АИАТ) и тяжестью неврологической симптоматики при данном заболевании. Установлена также достоверная связь между увеличением соотношения а-АТ/АИАТ к белкам S100 и GFAP и длительностью течения болезни Паркинсона.

Многие работы косвенно подтверждают важность сохранения идиотип-антиидиотипического баланса. Так, например, механизм эффективного действия

ИНТЕРФЕРОН-ГАММА И АУТОАНТИТЕЛА К НЕМУ ПРИ ПИОДЕРМИЯХ

высоких доз IVIg при антифосфолипидном синдроме, по мнению Sherer и Shoenfeld [24], может быть обусловлен связыванием антифосфолипидных антител соответствующими АИАТ, которые содержатся во вводимом препарате. Аналогично Lopez с соавторами объясняют эффективность применения IVIg при различных аутоиммунных заболеваниях [14].

Подводя итог проведенному комплексу исследований, можно сделать вывод о том, что дальнейшее развитие такого направления как аутоиммунитет к цитокинам при различной патологии, в частности, при пиодермиях, представляется новым и перспективным. Изучение системы идиотип-антиидиотип с направленностью к провоспалительному цитокину ИФ- γ при пиодермиях показало возникающие при этом нарушения, которые отражаются на клинической картине заболевания.

Полученные данные могут быть использованы для мониторинга течения пиодермии, а также открывают перспективы для разработки методов иммунокоррекции таких больных, направленных на восстановление соотношения идиотип-антиидиотип с направленностью к ИФ- γ с целью повышения реактивности организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ройт А., Брестовф Дж., Мейл Д.* (2000) Иммунология. М.: Мир.
2. *Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э.И.* (1999) Система цитокинов. М.: РГМУ.
3. *Пальцев М.А., Иванов А.А.* (2000) Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина.
4. *Jerne N.K.* (1985). Biosci. Rep., **5**, 439-451.
5. *Полежаев А.Б., Морозов С.Г.* (2002) Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. М.: Медицина.
6. *Bendtsen K., Svenson M., Jonsson V., Hippe E.* (1990) Immunol. Today, **11**, 167-169.
7. *Bakhiet M., Diab A., Mahamustafa, Jiezh, Lindqvist L., Link H.* (1997) Infect. Immun., **65**, 3300-3303.
8. *Храмцов М.М.* (2000) Вестн. Смоленской мед. академии, **4**, 95-97.
9. *Морозов С.Г.* (1997) Антитела к белкам нервной ткани при нервных и психических заболеваниях (иммунохимическое и клинико-иммунологическое исследование). Дисс... докт. мед. наук. Москва.
10. *Weir D.* (1978) Handbook of Experimental Immunology. Oxford.
11. *Кэтти Д., Райкундалия Ч.* (1991) В кн.: Антитела. Методы. Д. Кэтти (ред.). М.: Мир, том 1, с. 230-237.
12. *Francoise R., Kazatchkine M.D.* (1989) J. Immunol., **143**, 4104-4109.
13. *Hebert J., Bernier D., Mourad W.* (1990) Clin. Exp. Immunol., **80**, 413-419.
14. *Lopez P.H., Irazoqui F.J., Nores G.A.* (2000) J. Neuroimmunol., **105**, 179-183.
15. *Casali P., Notkins A.L.* (1989) Immunol. Today, **10**, 364-368.
16. *Bendtsen K., Svenson M., Jonsson V., Hippe E.* (1990) Immunol. Today, **11**, 167-169.
17. *Avrameas S.* (1991) Immunol. Today, **12**, 154-158.
18. *Чурилов Л.П.* (1988) В кн.: Иммунол. регуляция клеточных функций. Л.: Медицина, с. 30-43.
19. *Elkarim R., Granert C., Lindquist L., Link H., Bakhiet M.* (1999) Infect. Immun., **67**, 3051-3054.
20. *Elkarim R.A., Dahle C., Mustafa M., Press R., Zou L.P., Ekerfelt C., Ernerudh J., Link H., Bakhiet M.* (1998) Clin. Immunol. Immunopathol., **88**, 241-248.

21. *Madariaga L., Amurrio C., Martin G., Garcia-Cebrian F., Bicandi J., Iardelli P., Suarez M.D., Cisterna R.* (1998) *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **2**, 62-68.
22. *Кульберг А.Я.* (1986) Регуляция иммунного ответа. М.: Медицина.
23. *Gilles J.G., Vanzieleghe B., Saint-Remy J.M.* (2000) *Semin. Thromb. Hemost.*, **26**, 151-155.
24. *Sherer Y., Shoenfeld Y.* (2000) *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **123**, 10-15.
25. *Морозов С.Г., Грибова И.Е., Полещук В.В., Гнеденко Б.Б., Фадеев Д.А.* (2003) *Нейроиммунология*, **1**, 99.

Поступила 25.03.2003

INTERFERON-GAMMA, IDIOTYPIC AND ANTIIDIOTYPIC INTERFERON AUTOANTIBODIES AT PYODERMIS OF VARIOUS ETIOLOGY

S.G. Morosov^{1,2}, E.N. Volkova¹, B.B. Gnedenko¹, A.N. Protsenko¹, V.S. Fedyukin⁴

¹Moscow Clinical hospital N29, Hospitalnaya sq., 2, Moscow, 111020 Russia; tel.: (095)263-1628

²Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, RAMS, Moscow, Russia

³Russian State medical University, Moscow, Russia

⁴State Research Center of Applied Microbiology, Ministry of Public Health, Moscow, Russia

Sera of 80 patients with pyodermis of various etiology were analysed for interferon- γ (IF- γ), antiinterferon autoantibodies (IF-a-AB), corresponding antiidiotypic antibodies (IF-AIAB) and the ratio IF-a-AB/IF-AIAB using ELISA assay. There was no correlation between serum IF- γ and IF-a-AB. Progression of this disease was characterized by an increase of serum IF-a-AB and a decrease of IF-AIAB. Prolonged duration of this disease also caused the decrease of serum anti IF-a-AB and IF-AIAB. The ratio of IF-a-AB/IF-AIAB increased with severity and duration of this disease.

Key words: interferon- γ , autoantibodies, antiidiotypic antibodies, pyoderma