

## Естественные антитела к эндогенным биорегуляторам в патогенезе наркомании

(обзор литературы)

МЯГКОВА М.А.

д.м.н., профессор, рук. отдел. иммунологии Института физиологически активных соединений РАН, Черноголовка

ПАНЧЕНКО Л.Ф.

академик РАМН, д.м.н., профессор, рук. биохимического отдела Национального научного центра наркологии (ННЦН) МЗ РФ

*Обобщена информация об основных свойствах естественных антител (Е-АТ). Дан анализ клинических и иммунологических исследований в этой области. Уделено большое внимание роли Е-АТ в иммунорегуляции гомеостаза. Рассматриваются физиологические эффекты и механизм действия иммуноглобулинов с различными антигенами (АГ). Обсуждается роль Е-АТ в патогенезе нейродегенеративных процессов в мозге и зависимых от наркотика состояний организма. Показана возможность использования методов их определения для диагностики заболеваний и оценки связи гуморального иммунитета с общей системой регуляции. Намечен поиск индивидуальных подходов в профилактике наркомании.*

### Введение

В последние годы интенсивное развитие получило новое научное направление, находящееся на стыке нескольких дисциплин — медицины, иммунологии, нейробиологии — и касающееся изучения факторов гуморального иммунитета Е-АТ. Работы, проводимые в этой области, обусловили новый подход к исследованию роли иммунной системы человека в биохимических процессах, происходящих в условиях нормы и патологии. Е-АТ — иммуноглобулины, которые продуцируются нормальными В-клетками в отсутствие антигенной стимуляции. Изучение гуморального иммунитета традиционно основывалось на модели индуцированного иммунизацией антителообразования, тогда как вопрос о функционировании иммуноглобулинов и секретирующих их В-лимфоцитов в норме долгое время не привлекал особого внимания исследователей. Однако к середине 80-х годов был накоплен обширный фактический материал, свидетельствующий о присутствии в нормальных биологических организмах иммуноглобулинов к большому количеству аутологических тканевых АГ, клеток, клеточных структур, высокомолекулярных соединений и ряду низкомолекулярных веществ. Полученные данные свидетельствовали о важной физиологической роли естественных антител в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма.

В 60-е годы XX века Boyden S.V. впервые ввел понятие *естественные антитела* для определения фракции глобулинов, присутствующих в биологических жидкостях практически здоровых неиммунизированных организмов. Он полагал, что такие антитела (АТ), связывая чужеродные АГ, служат первичным неспецифическим естественным барьером на пути внешних патогенных агентов и таким образом выполняют защитную физиологическую функцию в организме [1].

Присутствие аутоантител (А-АТ) к разнообразным собственным компонентам нормальных клеток рассматривалось в то время большинством иммунологов в качестве характеристического признака различных аутоиммунных заболеваний. Количественное определение А-АТ к собственным АГ организма широко применяется и в настоящее время для диагностики аутоиммунных заболеваний, однако роль А-АТ в их патогенезе до сих пор остается предметом всесторонних исследований.

Другой точки зрения придерживался Grabar P., считавший, что основная роль Е-АТ состоит в поддержании химического гомеостаза внутренней среды организма и включает связывание, транспорт и выведение из него метаболитов и катаболитов [2]. Основанием для его гипотезы послужили многочисленные данные о выявлении

А-АТ не только при аутоиммунных, но и других заболеваниях неаутоиммунного характера и, более того, даже в сыноворотке крови практически здоровых людей.

Наиболее существенный прогресс в области исследования естественного иммунитета был достигнут в последние десятилетия благодаря методам аффинной хроматографии, гибридной технологии и молекулярной генетики. Из сыворотки крови нормальных животных и здоровых людей были выделены Е-АТ ко многим эндогенным и экзогенным АГ и изучены иммунохимические свойства таких АТ. Использование гибридных методов позволило получать моноклональные Е-АТ в количествах, необходимых для проведения широкого круга исследований. Благодаря применению молекулярно-генетических методов удалось добиться значительных успехов в изучении генов, кодирующих Е-АТ у здоровых людей и А-АТ у лиц с аутоиммунными заболеваниями.

В результате комплексного использования указанных методов было установлено, что отличительными особенностями продукции и в дальнейшем проявляемых свойств Е-АТ, по сравнению с индуцированными иммунизацией АТ, являются: использование в их биосинтезе эмбриональных немутированных V-генов, широкая полиспецифичность и способность большинства Е-АТ связывать собственные молекулы организма. Кроме того, было обнаружено большое сходство Е-АТ с А-АТ, возникающими при многих системных аутоиммунных заболеваниях.

Получили экспериментальное подтверждение гипотезы о многообразии физиологических функций Е-АТ. Доказано, что эти АТ являются вспомогательными и регуляторными молекулами, участвующими в формировании нормального иммунного ответа, гомеостатической регуляции, становлении идиотипического репертуара и защите организма от инфекционных и вирусных агентов.

Обобщенный анализ накопленных экспериментальных данных позволил Avrameas S. и соавторам [3,4] представить естественный иммунитет как систему стабильного гомеостатического равновесия между Е-АТ и их АГ-мишенями, которыми могут служить многочисленные компоненты внутренней среды организма, включая и другие АТ (идиотипическая сеть). Нарушение сложившегося равновесия с каким-либо АГ, по мнению авторов, приводит к инициации иммунного ответа, направленного на восстановление гомеостаза.

Учитывая актуальность изучения Е-АТ как для биохимии и иммунологии в целом, так и для медицины при создании методов диагностики в клинике, мы сочли необходимым подробно рассмотреть аспекты этой проблемы,

касающиеся многообразия видов Е-АТ, их иммунохимических свойств и физиологической роли в организме.

**Естественные антитела: природа их АГ-мишеней, иммунохимические свойства и функциональная реактивность**

В настоящее время широко используется классификация Е-АТ по их способности связывать определенные типы высокомолекулярных соединений, выступающих в роли экзогенных или эндогенных АГ, а также низкомолекулярных веществ, являющихся АГ-детерминантами макромолекулярных структур как внешних агентов, в том числе микроорганизмов, так и собственных органов, тканей, клеток, внутриклеточных образований, компонентов биологических жидкостей и т.п.

**Е-АТ к макромолекулярным соединениям**

В нормальной сыворотке крови человека и животных обнаружены Е-АТ к АГ-компонентам практически всех органов и тканей. Эти АТ, в частности, выявляются при взаимодействии с экстрактами нормальных тканей сердца, печени, почек, легких, мозга, органов желудочно-кишечного тракта и т.д. [5,6,7,8].

Обнаружены Е-АТ к различным тканеспецифическим белкам, таким, как тубулин, тироглобулин, миоглобин, коллаген и многим другим [6,9,10].

Известны Е-АТ к форменным элементам крови. Среди таких АТ наиболее изучены те, что реагируют с аутологичными, сингенными и ксеногенными эритроцитами [11].

В экспериментах с нормальными мышцами показано, что в индукции аутологичных антиэритроцитарных АТ принимает участие фермент сиалидаза, обнажающий скрытые АГ-структуры эритроцитов, с которыми и взаимодействуют Е-АТ [12-14]. Другой пример нормальных антиклеточных иммуноглобулинов — АТ к тимоцитам [15,16]. Известно, что состав лимфоидных клеток тимуса обновляется в течение 3-4 суток. Основная масса клеток при этом разрушается [17]. По-видимому, в разрушении этих клеток принимают участие и Е-АТ, цитотоксичные к тимоцитам. Естественные цитотоксические А-АТ к тимоцитам были обнаружены у мышшей различных исследованных линий [18].

В норме выявлены Е-АТ к АГ поверхностных мембран эпителиальных клеток тимуса [19] и мембранным АГ сперматозоидов человека [20].

Широкий спектр разновидностей Е-АТ представляют АТ к внутриклеточным компонентам, особенно к белкам цитоскелета [21-23] и структурам клеточного ядра, таким, как ДНК, РНК и нуклеопротеиды [6,10,24-27]. Антиядерные Е-АТ впервые были найдены в сыворотке крови нормальных людей в 1957 г. [28]. Впоследствии они были выявлены у нормальных мышшей различных линий [29,30]. По данным некоторых авторов [31], приблизительно одна из 500 клеток селезенки производит такие АТ у мышшей линий BALB/c, CBA/1 и NRL-lpr/lpr.

Выявлены Е-АТ к главным компонентам сократительных структур клетки — актину и миозину [32-34]. Эти вещества могут выступать как перекрестно реагирующие АГ. АТ к миозину обнаруживаются в здоровом организме людей и животных, а также при таких заболеваниях, как полимиозит, мышечная дистрофия, нейрогенная мышечная атрофия [32], причем титр антимиозиновых АТ при полимиозите повышается по сравнению с нормой [34].

У здоровых людей обнаружены АТ к растворимым белкам крови. Среди них выявлены специфические АТ к фетину, альбумину, трансферрину [35], ангиотензин-превращающему ферменту [36,37], пептидному гормону

инсулину [10], аутологичным IgG [10,38] и IgA [39] и т.д. Показано наличие Е-АТ к белкам системы свертывания крови — тромбину [40], а также фибриногену и продуктам деградации фибрина [32].

В особую группу выделяют естественные противоопухолевые антитела (ЕП-АТ). В 1910 г. Nouberg С. [41] впервые отметил цитотоксическое действие нормальной сыворотки крови быка на некоторые клетки злокачественных опухолей животных. Отличить ЕП-АТ от других типов Е-АТ можно методом абсорбции.

Так, Knut А. и другие [42] обнаружили в сыворотке крови здоровых людей Е-АТ двух типов: одни абсорбируются на эритроцитах человека групп А и В, другие — только на опухолевых клетках. Аналогичные данные получены и в других работах [43,44]. Антигенные мишени, с которыми реагируют ЕП-АТ, весьма разнообразны по своей природе и свойствам. Это могут быть антигенные детерминанты нормальных и опухолевых клеток человека и животных, а также частицы вирусов, индуцирующих образование опухолей. С помощью моноклональных АТ показано, что одни ЕП-АТ распознают структуры на клетках мышшиной лимфомы EL-4, другие взаимодействуют со структурами, экспрессированными на эмбриональных клетках, третьи реактивны к нормальным компонентам фибробластов [45]. Minden Р. с соавторами [46] связывают появление ЕП-АТ с перекрестно-реагирующими антигенами, общими для некоторых видов микроорганизмов и клеток злокачественных опухолей человека и животных [47,48].

Подробные иммунохимические исследования, подтверждающие наличие Е-АТ в сыворотке крови здоровых людей и нормальных животных, а также изменение их свойств при патологических процессах различного характера были проведены французскими учеными под руководством Avrameas S. и его последователей Dighiero G., Coutinho A., Kazatchkine M.D. и других [3, 4, 9, 22, 23, 35, 38, 49-61].

Усилиями этих авторов были выявлены естественные аутоантитела (ЕА-АТ) к широкому спектру эндогенных АГ, в том числе и к антиидиотипическим АТ. Впервые используя для изучения Е-АТ метод аффинной хроматографии, вышеназванным авторам удалось не только получить данные об изотипическом составе Е-АТ, характере их специфичности и аффинности, но и установить определяющую роль F(ab)<sub>2</sub>-фрагментов этих АТ в связывании АГ. Так, при исследовании пула сывороток крови от 800 здоровых доноров и трех индивидуальных сывороток крови здоровых людей [9, 52] тестируемые образцы наносили на иммуносорбентные колонки, содержащие тубулин, актин, тироглобулин, миоглобин, фетин, трансферрин, альбумин, цитохром С, или коллаген. Специфичные к ним сывороточные белки, выделенные с колонок, состояли главным образом из иммуноглобулинов классов М, G и А. Эти Ig связывали перечисленные эндогенные структуры в твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА) с различной степенью специфичности, причем было установлено, что такое связывание осуществляется за счет вариабельных Fab-фрагментов АТ.

Доказательством синтеза Е-АТ к собственным и чужеродным АГ нормальными В-лимфоцитами служат исследования с применением гибридомной технологии соматических клеток [3,23,51,61,62]. Гибридомы, полученные на основе клеток селезенки нормальных неиммунизированных мышшей, продуцировали моноклональные Е-АТ, реагирующие с широким набором экзогенных и, главным образом, эндогенных АГ. Такими эндогенными АГ служили ДНК, белки цитоскелета, компоненты ядра, наружной клеточной мембраны, митохондрий и других органоидов клетки, причем наиболее активное связывание Е-АТ проявлялось в отношении внутриклеточных компонентов, а не поверхностных мембранных структур.

### *Е-АТ к низкомолекулярным соединениям*

Известно, что низкомолекулярные вещества (гаптены) не способны самостоятельно индуцировать иммунный ответ. Они приобретают АГ-свойства, если входят в качестве АГ-детерминанты в состав конъюгированных АГ с каким-либо высокомолекулярным АГ-носителем. И тем не менее, Е-АТ для различных чужеродных и эндогенных гаптен обнаружены в сыворотках крови животных и людей.

У здоровых людей, животных и даже рыб из пула сывороток методом аффинной хроматографии выделены Е-АТ к экзогенному гаптenu тринитрофенолу и изучены их иммунохимические свойства [3,23,54,55,63]. Более того, показано, что некоторые гибридомы, полученные из клеток селезенки нормальных мышшей, специфически связывают различные нитропроизводные фенола [63,64]. Содержание Е-АТ к тринитрофенолу существенно повышено при вирусных инфекциях и таких заболеваниях, как СПИД, системная красная волчанка (СКВ) и другие [3, 55, 59].

Одним из первых случаев выявления АТ к низкомолекулярным соединениям было обнаружение Е-АТ к тироксину [65]. В последующем подобные АТ к гормонам щитовидной железы были выявлены у пациентов с аутоиммунными заболеваниями: макроглобулинемия Вальденстрема, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса и другие, а также у здоровых людей [66—68].

У пациентов с такими распространенными патологиями свертывающей системы крови, как тромбоз и тромбоцитопения, среди больных СКВ, а также другими аутоиммунными и инфекционными заболеваниями в составе характерно выявляемых антифосфолипидных АТ обнаруживаются и Е-АТ к низкомолекулярным фосфолипидам [69—71]. Е-АТ аналогичной специфичности выявляются и у здоровых людей [72].

А-АТ к низкомолекулярному соединению ацетилхолина были выявлены в сыворотках крови большинства больных миастенией гравис [73] с помощью ИФА. При этом в качестве АГ для сорбции на твердую фазу использовали конъюгированные АГ ацетилхолина с БСА или полилизинном. Связывание сывороточных иммуноглобулинов с такими АГ специфически тормозилось свободным ацетилхолином. В противоположность этому, очень низкая связывающая способность была характерна для сывороток крови здоровых людей, и, более того, такое связывание не тормозилось свободным гаптенном. Эти данные не позволили авторам сделать однозначного вывода о наличии Е-АТ к ацетилхолину у людей в условиях физиологической нормы.

Мягковой М.А. с соавторами [74] был разработан метод твердофазного ИФА, позволивший выявить Е-АТ к катехоламинам в сыворотке крови. В качестве АГ использовали адреналин, норадреналин или дофамин, связанные с полимерным носителем. Использование данного

метода позволило не только определить средний уровень IgM-Е-АТ к катехоламинам у здоровых людей, но и установить повышение содержания IgM-Е-АТ к норадреналину у обследованных больных шизофренией.

Этой группой исследователей обнаружены Е-АТ к широкому кругу низкомолекулярных пептидов ренин-ангиотензиновой и опиоидной систем [75—77]. Ими глубоко проанализированы свойства Е-АТ, изучено их изменение при патологиях, связанных с нарушением деятельности центральной нервной системы (ЦНС) [78, 79]. Установлено, что одновременное определение Е-АТ к панели пептидных АГ может являться диагностическим маркером течения нейродегенеративных заболеваний [80]. Проведено исследование по выявлению Е-АТ к пептидным биорегуляторам у больных СКВ с симптомом невроаскулита [76]. Это заболевание относится к категории аутоиммунных и сопровождается гиперпродукцией Ig. При этом на фоне изменения иммунитета происходят нарушения в системах, регулируемых пептидами: дерморфином (ДМ), вазопрессинном, ангиотензином II, брадикинином. Обнаружение АТ к эндогенным биорегуляторам закладывает основу для дальнейшего изучения механизмов патогенеза СКВ и механизмов аутоиммунитета.

Как видно из табл. 1, практически по всем показателям, за исключением уровня IgG к брадикинину, имеется достоверное ( $P < 0,001$ ) различие между группой доноров и больных СКВ. Вопреки ожиданиям, оказалось, что при общей гиперфункции гуморального иммунитета, свойственной больным СКВ, отмечается значительное снижение уровней Е-АТ к исследуемым АГ. Так, например, снижение IgM к ангиотензину II отмечалось у 59% больных СКВ, причем это снижение сохранялось в динамике у одних и тех же пациентов. Для вазопрессина уровень снижения IgG и IgM наблюдался у 71 и 58% соответственно. Причем сопоставление полученных данных для уровня вазопрессина с клиникой показало, что в ходе лечения у больных происходит изменение уровня Е-АТ. Пониженный уровень IgG и IgM к ДМ наблюдался у 43 и 31% больных. Известно, что расстройства функции нервной системы и связанной с ней иммунной системы являются причиной нейропатологических состояний и наиболее часто встречаются у людей старше 50 лет. В связи с этим у этой категории людей исследовали специфические факторы гуморального иммунитета — Е-АТ к ангиотензину II, брадикинину, вазопрессину и  $\alpha$ -амилоидным пептидам различной структуры (25—35) и (1—42) [79—80]. Результаты ИФА показали, что уровень Е-АТ у всех возрастных групп отличается от нормы. Причем по сравнению с изложенными выше данными по заболеванию СКВ отмечено повышение уровня Е-АТ к ангиотензину у людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями старше 50 лет в 90% случаев, а у больных старше 60 лет — в 80% случаев. Уровень АТ к брадикинину был повышен только у 50% больных всех возрастов, а к вазопрессину — только у 40% людей старше 50 лет и у 20% людей старше 60 лет. Уровень ан-

Таблица 1

Сравнение уровней естественных антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови больных СКВ и доноров

Антиген	Больные СКВ		Доноры	
	IgG	IgM	IgG	IgM
Брадикинин	0,827 0,028	0,704 0,026	0,823 0,043	0,814 0,031
Ангиотензин	—	0,877 0,022	—	1,256 0,040
Дерморфин	0,412 0,013	0,824 0,028	0,160 0,026	1,008 0,034
Вазопрессин	0,612 0,015	0,771 0,022	0,810 0,044	0,901 0,051

тител к  $\beta$ -амилоиду изменялся только в 40% случаев у больных старше 60 лет и 20% старше 70 лет. Причем это изменение не зависело от структуры используемого  $\beta$ -амилоида.

Деменция альцгеймеровского типа (ДАТ) является широко распространенным заболеванием людей пожилого возраста и характеризуется прогрессирующим снижением памяти и когнитивных функций. Патогенез этого заболевания до конца не ясен. По клиническим проявлениям ДАТ подразделяется на собственно болезнь Альцгеймера (БА), или пресенильный тип БА, и сенильную деменцию альцгеймеровского типа (СДАТ), или сенильный тип БА, но биохимические различия между ними еще не найдены. В настоящее время ведется активный поиск биохимических показателей, отражающих патофизиологическое состояние мозга, удобных для клинического анализа и ранней диагностики ДАТ, а также для постановки дифференциального диагноза разных типов ДАТ. Сделана попытка выявить маркеры дифференциации БА и СДАТ, которые позволяют упростить их клиническую диагностику [80]. Для этой цели применили новый метод определения Е-АТ к эндогенным биорегуляторам. Известно, что нарушения физиологического статуса человека при заболеваниях могут проявляться в количественных и качественных изменениях факторов гуморального иммунитета — изменении содержания Е-АТ к низкомолекулярным соединениям эндогенной природы. Для определения содержания Е-АТ к низкомолекулярным физиологически активным веществам в крови больных с разными типами ДАТ был применен высокочувствительный метод ИФА. Данные по содержанию Е-АТ к нейромедиаторам — биогенным аминам и пептидному фрагменту  $\beta$ -амилоида с аминокислотной последовательностью 1–42 (А<sub>1-42</sub>) — позволили показать биохимические различия между БА и СДАТ по изменению соотношений Е-АТ к медиаторам (серотонин, гистамин, норадреналин, адреналин) и Е-АТ к А<sub>1-42</sub>.

Выявленная ранее связь между содержанием Е-АТ к некоторым биогенным аминам, содержанием Е-АТ к брадикинину и Е-АТ к А<sub>1-42</sub> может быть следствием единого патологического процесса. Брадикинин, гистамин, серотонин относятся к медиаторам воспаления и к веществам, влияющим на проницаемость сосудов и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). По современным представлениям, воспалительные процессы играют определенную роль в патогенезе ДАТ, так как противовоспалительная терапия, например при ревматоидном артрите, снижает риск заболеваемости ДАТ в более позднем возрасте. Установлено, что для больных ДАТ наиболее характерны локальные воспалительные процессы в мозге, вызванные нейродегенерацией и приводящие, собственно, к формированию сенильных бляшек. Содержание Е-АТ к вазопрессину, пептиду, влияющему на сокращение стенки сосудов, и соотношение его Е-АТ к А<sub>1-42</sub> также практически было одинаковым при обеих формах ДАТ. Примененные в данной работе пептиды не являются мозгоспецифическими, поскольку они присутствуют в крови и других тканях, и изменения содержания Е-АТ к ним могут отражать не только процессы, происходящие в мозге. Однако в некоторых работах причиной появления Е-АТ к А<sub>1-42</sub> в крови при ДАТ считают нарушение ГЭБ. Результаты об изменении содержания Е-АТ в крови к физиологически активным соединениям в норме и патологии пока не поддаются анализу из-за малого количества данных в этой новой области исследований. Так как брадикинин является мощным регулятором проницаемости ГЭБ, можно предположить, что «разбаланс» соотношения Е-АТ для брадикинина и некоторых биогенных аминов у больных СДАТ по сравнению с больными БА отражает различия в содержании брадикинина и связанной с этим степеней вы-

раженности нарушения ГЭБ. Основным различием между образцами крови больных СДАТ и больных БА, установленным в данном исследовании, является разница в 39% между содержанием Е-АТ брадикинина и содержанием Е-АТ А<sub>1-42</sub> для этих форм ДАТ.

В серии работ Полевой О.Ю. с соавторами [81–86] исследовались Е-АТ к различным низкомолекулярным биорегуляторам, таким, как простагландины, катехоламины и гистамин, у здоровых людей и пациентов с различными заболеваниями неаутоиммунного характера, патогенез которых обусловлен нарушением обмена соответствующего медиатора. Для этих целей был разработан твердофазный ИФА, в котором использовали конъюгированные АГ, представляющие собой различные макромолекулярные носители с ковалентно присоединенными к ним низкомолекулярными биорегуляторами. Нормальные Ig, взаимодействующие с такими АГ, были обнаружены в сыворотках крови здоровых людей. Кроме того, у больных сердечно-сосудистыми и дерматологическими заболеваниями уровень таких Ig отличался от нормального и в некоторых случаях коррелировал с тяжестью патологического процесса и эффективностью проводимой терапии [81–86], что свидетельствует о важной физиологической роли этих АТ. Однако в проведенных исследованиях связывание Ig с конъюгированными АГ не тормозилось свободными биорегуляторами. Это обстоятельство не позволило авторам изучить аффинность и специфичность таких Ig, а также получить ответ на принципиально важный вопрос об истинной антигеновой природе выявляемых Ig.

#### *Имунохимические свойства Е-АТ*

Одной из основных характеристик АТ является принадлежность их к определенному классу иммуноглобулинов. Среди Е-АТ к собственным структурам организма обнаружены иммуноглобулины классов М, G и A [4, 8, 25, 58, 87]. Естественные А-АТ к АГ из тканей печени, сердца и мозга, обнаруженные в сыворотке крови здоровых людей, представляют собой высокоспецифичные иммуноглобулины М-класса [7]. Нормальные А-АТ к тимоцитам также являются IgM-антителами [15,16]. С другой стороны, антиэритроцитарные Е-АТ — компонент всех нормальных сывороток крови доноров с группой крови АВ — составляют иммуноглобулины G-класса [88]. АТ к внутриклеточным компонентам и макромолекулярным соединениям представлены в основном иммуноглобулинами классов G и M с заметным преобладанием последнего [4, 6, 9, 25, 39, 52, 89]. Семикратное превышение IgM над IgG наблюдалось в случае Е-АТ против аутологичного IgA [52]. Для Е-АТ к фосфолипидам показано, что их антигеновая активность связана главным образом с IgG [72]. При изучении Е-АТ к фибриногену оказалось, что в сыворотке крови они на 30–50% представлены IgG [89].

При аффинной хроматографии АТ из сывороток крови здоровых людей выявляются Е-АТ трех основных классов — IgG, IgM и IgA [3,4,9]. Случаи превышения IgG над другими фракциями, вероятно, можно объяснить тем, что в результате аффинного выделения наибольшая часть фракции IgM находится в составе иммунных комплексов, являющихся более стабильными, чем комплексы с другими классами Ig, вследствие поливалентного связывания IgM с АГ. Таким образом, в IgG-фракции будут преобладать АТ со свободными активными центрами, которые легче выделяются на аффинных колонках.

Другими важными характеристиками Е-АТ являются их специфичность и аффинность. Высокоинформативным в этом плане оказались исследования с применением

аффинного выделения Е-АТ и использованием твердофазного ИФА для количественной оценки их иммунохимических свойств.

Большинство авторов в качестве характерной особенности Е-АТ отмечают их полиреактивность [3–6, 9, 10, 21, 22, 35, 58]. Так, ИФА-определение АТ к денатурированной и нативной ДНК, коллагену, АГ сердца, легких, почек и печени в 28 препаратах иммуноглобулина из плазмы здоровых людей выявило связывающую способность тестируемых Е-АТ в отношении всех использованных ауто-АГ [5]. При исследовании сывороток крови здоровых людей и нормальных животных были обнаружены Е-АТ, полиреактивные к ряду ауто-АГ — двууглеводной ДНК, Fc-фрагменту IgG, тиреоглобулину, инсулину, а также к белковым и углеводным АГ вирусов и бактерий [10]. В сыворотке пуповинной крови человека при использовании ИФА было найдено незначительное содержание полиреактивных IgM-EA-АТ, связывающих кардиолипид, пируватдегидрогеназу, односпиральную ДНК, тиреоглобулин и Fc-фрагменты IgG-ревматоидного фактора [6]. Специфичность испытанных IgM-A-АТ к указанным ауто-АГ была подтверждена ингибиторным ИФА.

Однако мультиреактивные Е-АТ могут проявлять высокую специфичность в отношении какого-либо одного из связываемых ими АГ, как, например, антитубулиновые и антитиреоглобулиновые АТ [35,52], АТ к аутологичным IgG [90] и IgA [39], антиэритроцитарные АТ [91].

Несмотря на то, что в зависимости от природы антигенной мишени специфичность Е-АТ может варьировать в широких пределах, по характеру этого свойства, проявляемому Е-АТ в ИФА, их условно можно разделить на 3 группы.

*Первую группу* составляют высокоспецифичные АТ, связывание которых с сорбированным АГ в твердофазном ИФА ингибируется только этим же свободным АГ. К таким Е-АТ можно отнести АТ против тубулина и тиреоглобулина [35,57], антиэритроцитарные АТ [91], АТ к аутологичным IgG [90] и IgA [39].

*Вторая группа* АТ, преобладающих в организме, представлена полиспецифичными АТ. Такие Е-АТ реагируют не только с АГ, используемым для их выделения, но и с другими АГ как родственной, так и неродственной ему химической структуры. Примером Е-АТ данной группы могут служить АТ, связывающие как высокомолекулярные АГ, актин, миоглобин, ДНК, белки цитоскелета [9,35,61], так и низкомолекулярные соединения [3,55].

*Третья группа* Е-АТ, таких, как АТ к альбумину, трансферрину, цитохрому С и другим АГ, специфически связываются в прямом ИФА соответствующим сорбированным АГ, однако такое связывание лишь в незначительной степени тормозится в конкурентном ИФА свободным АГ [9,52,92].

Подтверждением приведенных данных о характере специфичности Е-АТ служат результаты исследований иммунохимических свойств моноклональных Е-АТ [23,50,61]. В этих работах при скрининге гибридом от клеток селезенки и опухолевых клеток, выращиваемых с целью получения моноклональных Е-АТ к тому или иному АГ, всегда обнаруживались как высокоспецифичные, так и полиспецифичные АТ. Например, при слиянии клеток селезенки от шестидневных неиммунизированных мышей линии BALB/с с несекретируемыми опухолевыми клетками линии Sp210 были получены 384 гибридомы, секретирующие иммуноглобулины. Е-АТ, продуцируемые этими гибридомами, были скринингованы на связывающую способность с панелью из 10 различных эндо- и экзогенных АГ, при этом выявлены 24 клон с антигенойной активностью. Далее клонировали 10 из 24 выявленных гибридом и из асцитной жидкости выделили Е-АТ, среди которых были обнаружены 3 группы антигенойной активности. Один клон синтезировал высокоспецифичные АТ к тринитрофенолу, три других клонировали Е-АТ, специфичные к актину и тубулину, остальные 6 клонов вырабатывали полиспецифичные Е-АТ к различным АГ используемой панели. При этом была отмечена большая степень сходства характера специфичности исследуемых моноклональных Е-АТ и естественных АТ, выделенных из пула сывороток крови здоровых людей.

Связывающая способность Е-АТ в отношении их антигенных мишеней характеризуется, как правило, проявлением более низкой аффинности по сравнению с АТ, индуцированными иммунизацией, или А-АТ, выявляемыми при различных аутоиммунных состояниях [3,6,50,58]. Так, для Е-АТ к динитрофенолу, которые были аффинно выделены из сывороток крови здоровых людей, константа аффинности ( $K_a$ ) не превышала  $106 \text{ M}^{-1}$ , тогда как для индуцированных АТ, полученных активной иммунизацией животных,  $K_a$  достигала величины  $1010 \text{ M}^{-1}$  [61]. В то же время,  $K_a$  полиспецифичных Е-АТ для определенных АГ может составлять в некоторых случаях величину, равную  $K_a$  моноспецифичных АТ (против тех же АГ), полученных из гипериммунизированных животных [22,56]. При изучении пяти мышинных моноклональных естественных IgM-A-АТ, полиреактивных к АГ цитоскелета и ДНК, было установлено, что все пять АТ различные АГ связывают с константами, аналогичными константам иммунных АТ к тем же антигенам [22]. Аминокислотная последовательность и пространственная структура комплементопределяющих регионов (CDRs) переменных доменов этих IgM-E-АТ были близки аналогичным параметрам тех же областей иммунных АТ. Эти данные свидетельствуют, что далеко не всегда имеется строгая корреляция между аффинностью и специфичностью Е-АТ.

Известно, что в механизме развития неврологических расстройств принимают участие нейромедиаторы опиатной системы [74, 78]. Так, у больных психозом и наркоманией обнаружено изменение уровня опиоидных пептидов и увеличение АТ к  $\mu$ -эндорфину и уникальному пептиду ДМ. В ходе дальнейшего развития работы были исследованы иммунохимические свойства АТ к опиоидным пептидам у различных категорий больных. С помощью разработанного варианта ИФА проведен сравнительный анализ содержания Е-АТ к опиоидным пептидам в группах больных опиоидной наркоманией, атипичным дерматитом и доноров. Для выявления АТ в качестве АГ использовали как соединения с хорошо изученными свойствами, так и пептиды, являющиеся аналогами ДМ и обладающие различной биологической активностью и сродством к опиатным рецепторам. В результате было показано, что уровень IgG остается практически одинаковым у всех обследованных лиц. Данные по выявлению АТ IgM-класса, связывающих опиоидные пептиды у обследованной группы людей, представлены в табл. 2.

Как видно из полученных результатов, у больных опиоидной наркоманией в среднем по группе наблюдается специфическое увеличение уровня АТ IgM-класса, связывающих ДМ ( $P < 0,001$ ). Содержание АТ к  $\mu$ -энкефалинам и ряду аналогов ДМ в целом по группе не отличалось от

Данные ИФА выявления антител IgM-класса к опиоидным пептидам в сыворотке крови больных и доноров

Исследуемый антиген	Среднее значение оптической плотности (OD <sub>492</sub> ) в ИФА		
	Больные опиоидной наркоманией	Больные атопическим дерматитом	Доноры
Met-энкефалин	0,81 0,044	0,46 0,023	0,67 0,026
Leu-энкефалин	0,60 0,068	0,35 0,036	0,51 0,025
H-Tyr-DAla-Phe-Gly-Tyr-Ser-NH <sub>2</sub>	0,94 0,032	0,33 0,033	0,76 0,017
H-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH <sub>2</sub>	0,61 0,021	0,47 0,047	0,52 0,015
[Arg <sup>1</sup> ]-дерморфин	0,69 0,040	0,57 0,030	0,62 0,011
D-Tyr-DAla-Phe-DAla-Tyr-Pro-Ser-OH	0,54 0,021	0,44 0,042	0,54 0,017
[D-Ala <sup>4</sup> ]-дерморфин	0,61 0,017	0,51 0,012	0,60 0,015
[D-Orn <sup>2</sup> ]-дерморфин	0,69 0,013	0,62 0,034	0,70 0,013
H-Tyr-DAla-Phe-Dala-OH	0,84 0,037	0,47 0,047	0,59 0,024
[Arg <sup>2</sup> ]-дерморфин	0,50 0,047	0,42 0,039	0,56 0,020
[D-Lys <sup>2</sup> ]-дерморфин	0,70 0,041	0,49 0,047	0,61 0,019

нормы. У больных атопическим дерматитом выявлено существенное снижение нормального уровня E-АТ, связывающих все исследуемые эндогенные опиоидные пептиды. Причем это снижение было высокоспецифичным именно для эндогенных нейропептидов, поскольку в среднем по группе не было обнаружено достоверных различий для АТ IgM-класса, связывающих синтетические аналоги ДМ. Анализируя результаты, представленные в табл. 2, с точки зрения наибольшего отклонения от нормы у больных в содержании АТ IgM-класса для различных опиоидных пептидов, обнаружили, что такой эффект в наибольшей степени свойственен ДМ (P 0,001). Известно, что ДМ наиболее стабилен в организме среди известных опиоидных пептидов, что, вероятно, играет существенную роль в проявлении его АГ-свойств. На следующем этапе работы проведено выделение АТ к ДМ из сыворотки крови больных опиоидной наркоманией, атопическим дерматитом и доноров с помощью синтезированного иммуносорбента (табл. 3).

После проведения хроматографии из сыворотки крови больных (по 10 чел. в каждой группе) и здоровых людей были выделены АТ классов IgG и IgM к ДМ. Причем у 50% доноров выделены АТ только IgG типа, а в единичном случае хроматографированы IgG- и IgM-антитела. При исследовании изотипического состава АТ против опиоидных пептидов, присутствующих в сыворотке крови больных опиоидной наркоманией, было обнаружено, что из каждого образца хроматографированы АТ к ДМ обоих классов. В случае больных атопическим дерматитом у 80% лиц были выделены АТ IgG- и IgM-класса, а у остальных

больных — только IgG-класса. Далее для всех образцов АТ против ДМ определили K<sub>a</sub>. Результаты представлены в табл. 4.

Для образцов сыворотки крови доноров K<sub>a</sub> удалось рассчитать только для АТ IgG-класса. В случае АТ IgM-класса в сыворотке крови людей, вероятно, присутствуют популяции низкоаффинных АТ к данному АГ. Далее для всех исследуемых образцов АТ IgM-класса к ДМ была изучена специфичность связывания с некоторыми эндогенными лигандами опиатных рецепторов, имеющими сходную с ДМ физиологическую активность (морфин, -эндорфин, Leu-энкефалин, Met-энкефалин), а также с синтетическими аналогами ДМ (табл. 5).

Выбор пептидных аналогов ДМ проводили с учетом общей для всех соединений биологической опиоидной активности. В связи с этим все исследуемые вещества можно условно разбить на три группы. В первую вошли укороченные, модифицированные фрагменты ДМ — это N-концевой тетрапептид (I) и C-концевой аналог ДМ (II). Биологическая активность соединения I полностью сохраняется, а в случае соединения II она отсутствует. Вторую группу составили вещества, полученные либо точечной заменой аминокислотных остатков в ДМ, либо модификацией пептидного состава путем введения D-аминокислот (III, IV, V). Такие соединения сохраняют лишь 2—3% опиоидной активности ДМ. Третья группа представлена аналогами ДМ с изменениями в структуре пептида по второму аминокислотному остатку (VI, VII, VIII). Эти вещества сохраняют от 45 до 60% биологической активности. В результате проведенного исследова-

Результаты выделения антител к ДМ у больных опиоидной наркоманией, атопическим дерматитом и доноров

Группы обследованных лиц	Количество человек, у которых выделены антитела к дерморфину	
	IgG-класс	IgM-класс
Больные опиоидной наркоманией (10 чел.)	10 чел.	10 чел.
Больные атопическим дерматитом (10 чел.)	10 чел.	8 чел.
Доноры (8 чел.)	5 чел.	1 чел.

Таблица 4

Определение  $K_a$  антител против ДМ, выделенных из сыворотки крови больных опийной наркоманией, атопическим дерматитом и доноров

Обследованные группы	Исследуемый антиген	
	Дерморфин	
	ДИАПАЗОН $K_a$ , РАССЧИТАННЫЙ ДЛЯ АНТИТЕЛ ( $M^{-1}$ ):	
	IgG-класса	IgM-класса
Доноры	$10^4-10^5$	Рассчитать не удалось
Больные опийной наркоманией	$10^9-10^{10}$	$10^6-10^9$
Больные атопическим дерматитом	$10^8-10^{11}$	$10^7-10^{11}$

Таблица 5

Специфичность антител против ДМ, выделенных из сыворотки крови больных атопическим дерматитом, опийной наркоманией и доноров

№	Группы обследованных лиц	% ингибирования в ИФА												
		ДМ	МФ	-ЭД	Leu-ЭФ	Met-ЭФ	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	Больные атопическим дерматитом	100	0,1	—	—	0,01	42	—	0,01	0,01	22	0,01	0,01	0,01
2		100	4,2	—	—	0,1	18	—	0,1	0,3	10	0,7	—	—
3		100	3,3	0,7	—	0,7	31	0,01	—	—	0,1	0,1	—	—
4		100	12,0	1,5	—	0,01	22	0,01	—	0,01	0,1	—	—	—
5		100	—	1,0	0,1	—	0,1	0,2	—	0,05	—	—	—	—
6		100	—	0,2	0,4	—	17	—	0,1	—	—	0,1	—	—
7		100	—	1,1	—	0,3	0,9	0,1	—	—	12	0,4	0,05	0,01
8		100	0,01	—	1,8	2,4	8	—	—	—	7	0,1	0,1	—
1	Больные опийной наркоманией	100	—	7,2	1,8	0,09	12	—	0,01	0,01	0,9	—	—	0,01
2		100	—	2,4	3,3	0,01	10	—	0,2	—	2	0,1	0,1	—
3		100	0,1	0,05	2,0	—	0,1	0,1	—	—	1,1	0,4	—	—
4		100	0,05	4,3	0,1	—	0,7	—	0,1	0,4	0,1	—	1,2	—
5		100	0,01	—	5,3	0,7	—	—	0,02	—	0,01	—	0,7	0,1
6		100	24,0	5,1	16,5	—	41	0,01	—	—	4,4	0,1	0,4	5,2
7		100	81,0	2,6	—	—	47	0,01	—	—	—	0,2	—	0,9
8		100	0,7	—	—	—	2	—	—	0,1	0,1	0,01	—	0,7
9		100	42,0	—	0,8	0,01	19	—	0,3	—	0,8	—	0,1	0,01
10		100	0,8	1,8	0,1	0,01	28	0,1	0,05	0,01	0,4	—	—	0,1
	Доноры	100	—	—	—	0,1	0,1	—	0	—	0,1	—	—	—

В таблице обозначены:  
 ДМ — дерморфин  
 МФ — морфин  
 -ЭД — -эндорфин  
 Leu-ЭФ — Leu-энкефалин  
 Met-ЭФ — Met-энкефалин  
 I. H-Tyr-Dala-Phe-Dala-OH  
 II. H-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>  
 III. [Arg<sup>1</sup>]-дерморфин  
 IV. D-Tyr-Dala-Phe-Dala-Tyr-Pro-Ser-OH  
 V. [D-Ala<sup>4</sup>]-дерморфин  
 VI. [D-Orn<sup>2</sup>]-дерморфин  
 VII. [D-Arg<sup>2</sup>]-дерморфин  
 VIII. [D-Lys<sup>2</sup>]-дерморфин



ния установили, что все сыворотки крови индивидуальны по своей специфичности. Наиболее значительным перекрестом с морфином обладают некоторые сыворотки крови (№ 6,7,9) больных опишной наркоманией. Это, вероятно, связано с наличием общих детерминант у ДМ и морфина, участвующих в связывании с  $\mu$ -опиатным рецептором. Для больных атопическим дерматитом только в сыворотке № 4 обнаружено торможение морфином (12%). При исследовании специфического взаимодействия с аналогами ДМ было установлено, что выделенная популяция АТ наиболее полно связывается с N-концевым тетрапептидом I у больных как атопическим дерматитом, так и опишной наркоманией. В случае пептида II перекрестные реакции отсутствуют. Незначительно связывание и с аналогами ДМ второй группы. Исключение составляет соединение V, в котором сохраняется N-концевая последовательность ДМ. У большинства обследованных лиц не наблюдается специфического взаимодействия и с третьей группой аналогов ДМ. Анализируя аминокислотную последовательность ДМ с точки зрения взаимодействия с АТ, образующимися в сыворотке крови больных, можно сделать вывод, что наиболее существенный вклад вносит это взаимодействие N-концевой тетрапептид, который обладает и биологической активностью. Замена первого аминокислотного остатка (Tyr) молекулы ДМ на (Arg) ведет к снижению связывания с АТ и потере биологической активности. Следует отметить, что наличие алифатического (D-Ala) во втором положении ДМ также существенно влияет на взаимодействие АТ. Замена этого остатка на основные аминокислоты (Arg, Lys, Orn) приводит к значительному снижению связывания АТ с этими соединениями, хотя биологическая активность при этом падает только наполовину. Таким образом, полученные данные расширяют поле знаний о закономерностях специфического взаимодействия АТ, образующихся в сыворотке крови больных, с ДМ, его аналогами различной структуры и эндогенными нейропептидами.

Для дальнейшего исследования иммунохимических свойств E-АТ к опиатным пептидам и моноаминам выбраны больные различными видами наркоманий. В развитии синдрома психофизической наркотической зависимости наряду с ЦНС участвует и иммунная система организма. Нейромедиаторы, в свою очередь, могут осуществлять функциональную корреляцию между двумя системами, вызывая дозозависимое изменение иммунного ответа и активности ЦНС. Проведен сравнительный анализ содержания иммуноглобулинов к опиоидным пептидам и биогенным аминам у здоровых лиц и больных эфедроновой и опиатной наркоманиями твердофазным методом ИФА. Обследованы группа больных с наркотической зависимостью (32 чел.) и группа здоровых доноров (20 чел.). Возраст больных составлял от 20 до 40 лет, здоровых людей — от 20 до 30 лет. Длительность употребления наркотиков колебалась от 1 года до 17 лет. Большинство лиц в группе наркоманов употребляли опиаты и кустарно изготовленные опиатные наркотические вещества. Давность последнего приема наркотика колебалась от двух часов до трех месяцев. Забор крови для анализа у всех больных проводили при поступлении в клинику, далее повторно отбирали кровь с интервалом в 7 дней.

Исследования, проводимые ранее, показали, что в сыворотке крови некоторых больных, хронически употребляющих опиаты и препараты эфедрина, наблюдается повышение уровня IgM, связывающих данные наркотиче-

ские вещества. На основании результатов ИФА определили количество больных опишной и эфедроновой наркоманиями, имеющих по сравнению с донорами либо достоверно повышенный уровень IgM к данным АГ, либо не отличающийся от нормы. При этом было обнаружено увеличение уровня IgM к опиатам для 11 чел.; для шести человек наблюдалось повышение уровня IgM как к опиатам, так и к эфедрину, и только для двух человек обнаружено повышение уровня IgM к эфедрину. Для остальных (13 чел.) не наблюдалось повышение IgM к данным АГ. Сопоставление полученных результатов с клиническими данными выявило наличие абстинентного синдрома для больных, имеющих увеличение уровня АТ к опиатам и эфедрину. Известно, что в патогенезе наркомании важное место занимают изменения в системах опиоидных пептидов и биогенных аминов. Поэтому представляло интерес определение уровня IgM, связывающих нейромедиаторы, относящиеся к указанным выше системам, в группе больных наркоманов, имеющих достоверное повышение уровня АТ к наркотическим соединениям (опиаты, эфедрин). Для этого был проведен твердофазный ИФА, основанный на использовании специально синтезированных конъюгированных опиоидных пептидов (ДМ, эндорфина) и биогенных аминов (дофамина, норадреналина, серотонина, гистамина) на полимерной матрице. Результаты ИФА приведены в табл. 6. Как видно из полученных данных, в сыворотке крови наркоманов с достоверно повышенным уровнем АТ только к опиатам, а также опиатам и эфедрину, наблюдается повышение IgM, связывающих опиоидные пептиды. Для больных, имеющих повышенный уровень АТ к эфедрину, не обнаружено изменения IgM против опиоидных пептидов по сравнению с нормой. Увеличение уровня IgM к биогенным аминам в единичных случаях наблюдается во всех приведенных в табл. 6 группах больных наркоманией.

Интересно отметить, что у больных с повышенным уровнем АТ к эфедрину выявлено достоверное увеличение IgM, связывающих только норадреналиновый АГ, а в группе наркоманов, имеющих АТ к опиатам и сумме опиаты и эфедрин, обнаружены лица с повышенным содержанием IgM как к норадреналину, так и к дофамину. В этих же группах выявлены больные, имеющие достоверное повышение IgM, связывающих серотонин и гистамин.

Полученные результаты по увеличению IgM, связывающих опиоидные пептиды и биогенные амины, подтверждают данные об участии этих нейромедиаторов в патогенезе заболевания наркоманией. Известно, что эти вещества осуществляют регуляцию физиологических процессов, направленных на поддержание гомеостаза и адаптацию организма к изменяющимся условиям внутреннего и внешнего окружения. Прием наркотика может стимулировать выброс этих нейромедиаторов, которые, в свою очередь, влияют на синтез IgM, способных на определенных этапах заболевания выполнять компенсаторную функцию и регулировать содержание этих веществ в организме. Однако из приведенных в таблице данных видно, что нейромедиаторы опиоидной и моноаминовой системы по-разному задействованы в патогенезе заболевания. Для всех больных, имеющих повышенный уровень АТ к опиатам, наблюдается достоверное увеличение IgM к опиоидным пептидам, и только для части больных этой группы выявлено увеличение IgM к моноаминам. Эти факты могут свидетельствовать о наибольшей повреждающей функции опиоидных пептидов в развитии опиатной зависи-



Таблица 6

**Иммуноферментный анализ содержания IgM, связывающих опиоидные пептиды и биогенные амины, в группе больных наркоманией и доноров**

	Характеристика больных по содержанию антител к наркотическим веществам	Значение оптической плотности в ИФА (ОП <sub>492</sub> ) для анализируемых конъюгированных антигенов						
		Дерморфин	Leu-энкефалин	-эндорфин	Серотонин	Гистамин	Норадреналин	Дофамин
1	Группа больных, имеющих повышенный уровень IgM к опиатам	0,870 +	0,806 +	0,850 +	0,706	0,310	0,715	0,321
2		0,626 +	0,602 +	0,624 +	0,685	0,293	1,050 +	0,352
3		0,702 +	0,728 +	0,690 +	1,018 +	0,318	0,790	0,315
4		0,715 +	0,703 +	0,596 +	0,521	0,327	1,031 +	0,329
5		0,864 +	1,019 +	0,984 +	0,698	0,694 +	0,755	0,331
6					0,827 +	0,426 +	0,820 +	0,491 +
7		1,071 +	1,049 +	0,937 +	0,659	0,521 +	0,715	0,309
8		0,601 +	0,520 +	0,526 +	0,711	0,350	0,918 +	0,420 +
9		0,562 +	0,531 +	0,492 +	0,705	0,317	0,758	0,346
10		0,712 +	0,560 +	0,512 +	1,099 +	0,341	0,923 +	0,417 +
**					0,560	0,303	0,687	0,265
11	0,574 +	0,560	0,528 +	1,137 +	0,386 +	0,926 +	0,519 +	
1	Группа больных, имеющих повышенный уровень IgM к эфедрину	0,328	0,380	0,296	0,689	0,302	1,160 +	0,312
2		0,441	0,437	0,350	0,671	0,298	0,930 +	0,286
1	Группа больных, имеющих повышенный уровень антител к опиатам и эфедрину	0,646 +	0,546 +	0,491 +	0,651	0,311	1,112 +	0,296
**		0,361	0,437	0,327	0,678	0,328	0,790	0,274
2		1,060 +	0,933 +	0,777 +	1,055 +	0,297	0,937 +	0,529 +
**		0,613 +	0,607 +	0,639 +	0,935 +	0,285	0,802	0,361
3		0,899 +	0,859 +	0,861	0,916 +	0,528 +	0,617	0,352
4		1,030 +	0,968 +	0,919 +	1,015 +	0,605 +	0,786	0,348
**		0,502	0,498	0,400	0,706	0,587 +	0,755	0,337
5		0,742 +	0,668 +	0,629 +	0,688	0,275	0,781	0,309
6	0,812 +	0,720 +	0,493 +	1,136 +	0,633 +	1,556 +	0,814 +	
Доноры	Ср. Дон.	0,352	0,338	0,324	0,491	0,269	0,626	0,280
	Ср. дон. + 3	0,057	0,059	0,052	0,77	0,032	0,061	0,032
		0,523	0,515	0,479	0,722	0,364	0,810	0,375

\* Знаком «+» отмечена ОП<sub>492</sub> для сыворотки наркоманов, имеющая достоверно повышенное содержание IgM к данному антигену  
 \*\* Результаты ИФА после лечения

мости. Необходимо отметить, что определение уровня IgM к данным АГ является маркером течения заболевания и правильности выбора терапии. Так, в табл. 6 приведены результаты по содержанию IgM для больных № 1 и № 4 на стадии ремиссии. В этом случае наблюдается нормализация содержания IgM для большинства АГ. Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что при развитии наркотической зависимости происходит изменение иммунной системы, проявляющееся в увеличении синтеза IgM, связывающих нейромедиаторы опиоидной и моноаминовой природы. Повышение уровня IgM к этим соединениям подтверждают факты участия системы опиоидных пептидов и биогенных аминов в патогенезе заболевания.

#### *Физиологические функции E-AT*

В настоящее время интенсивно изучается проблема взаимосвязи E-AT с индуцированными моноспецифиче-

скими АТ к чужеродным АГ, а также с A-AT, возникающими при иммунопатологических состояниях. Avrameas S. предложил гипотезу, рассматривающую естественный иммунитет как гомеостатическое равновесие между E-AT и их разнообразными мишенями [3,4]. Основным тезисом этой гипотезы является положение о том, что введение определенного количества чужеродного АГ или повышение концентрации эндогенных АГ (в силу различных причин) могут привести к временному или хроническому нарушению гомеостаза иммунной системы. Временное нарушение служит причиной возникновения моноспецифических АТ, тогда как хронический процесс приводит к развитию иммунопатологических состояний. Механизм развития указанных процессов определяется взаимодействием полиспецифических рецепторов В-клеток с различными АГ. Такое взаимодействие может индуцировать серию мутаций и делений В-клеток, ведущих к синтезу высокоспецифичных АТ для определенного АГ.

В 1947 г. Grabar P. выдвинул гипотезу, согласно которой в нормальном организме присутствуют Е-АТ, выполняющие не только иммунологическую, но и физиологическую защитную функцию, направленную на поддержание внутреннего гомеостаза [93]. В своих последующих работах он показал, что Е-АТ, связанные с поврежденными или разрушенными тканями и клетками, могут принимать на себя функцию транспортеров продуктов обмена веществ, если в организме ослаблен ферментативный катаболизм [94,95]. Такие Е-АТ путем создания соответствующих иммунных комплексов могут способствовать фагоцитозу и элиминации из организма мертвых и разрушенных клеток.

Наличие указанных функций и механизмов реактивности естественных А-АТ подтверждают исследования последних десятилетий.

Установлено, что нормальные мыши продуцируют А-АТ, вовлеченные в макрофагальную элиминацию стареющих эритроцитов или имеющих структурно-функциональные нарушения [13,14]. Аналогично продемонстрировано, что в норме взаимодействие А-АТ с внеклеточными кератиновыми филаментами быстро и очень эффективно инициирует механизм удаления нерастворимых кератиновых филаментов с последующим уничтожением кератиноцитов [96].

Транспортная функция Е-АТ, поддерживающая гомеостаз, показана в отношении ряда соединений: миоглобина, высвобождающегося в кровь при физических нагрузках [97]; «состарившихся» молекул сывороточного альбумина, накапливающегося при острых поражениях печени [92,98]; фибриногена и тромбина при гиперкоагуляционных состояниях [40,89].

Экспериментальные данные подтвердили предположение Jette N. об участии АТ нормального организма в сети идиотипических и антиидиотипических взаимодействий между лимфоцитами при регуляции функционирования иммунной системы. В норме обнаружены различные клоны В-лимфоцитов, которые продуцируют аутологичные антиидиотипические АТ. Спонтанный синтез антиидиотипических АТ описан для идиотипов по отношению к гаптенам [48,99] и бараньим эритроцитам [100].

Иммунорегуляторная роль Е-АТ продемонстрирована и в опытах, проводимых с использованием гибридом [101]. В этих работах из перинагальных печени и селезенки нормальных мышей линии BALB/c были получены гибридомы, секретирующие полиспецифические АТ с высокой антиидиотипической активностью. Инъекции взрослым или перинагальным особям таких Е-АТ, в зависимости от отобранной антиидиотипической активности, усиливали или ослабляли (вплоть до отмены иммунного ответа) экспрессию соответствующих идиотипов.

Функция модуляторов иммунного ответа выявлена также для гетерологичных Е-АТ при изучении влияния кроличьих поликлональных Е-АТ широкой полиспецифичности на уровень содержания и реактивность полиспецифичных моноклональных А-АТ нормальных и аутоиммунных мышей [3]. Изменение реактивности А-АТ мышей оценивали по их способности связывать ДНК и тринитрофенол (ТНФ). В данном случае участки мышечных АТ, связывающие ДНК и ТНФ, являлись идиотипическими детерминантами для кроличьих АТ. Препарат кроличьих Е-АТ, отобранных к указанным идиотипическим детерминантам, вводили новорожденным особям мышей линий BALB/c и MRL-lpr/lpr. Титры А-АТ и их идиотипическую активность определяли в дальнейшем

у этих же взрослых нормальных особей линии BALB/c и аутоиммунных мышей линии MRL-lpr/lpr. У взрослых нормальных BALB/c-мышей не было обнаружено изменений в уровнях ЕА-АТ и не наблюдалось их идиотипической супрессии. В противоположность этому значительное снижение спонтанных анти-ДНК-АТ, а также некоторое уменьшение анти-ТНФ-АТ выявлялось для взрослых аутоиммунных MRL-lpr/lpr-особей.

Таким образом, было показано, что гетерологичные антиидиотипические Е-АТ, направленные против ЕА-АТ, могут проявлять регуляторную функцию. Очевидно, что введение Е-АТ не способно изменить состояние устойчивого равновесия иммунной системы у нормальных BALB/c-мышей. Напротив, более действенное вмешательство антиидиотипических АТ в сетевые реакции аутоиммунных MRL-lpr/lpr-особей, вероятно, объясняется тем, что у них наблюдаются ранние нарушения иммунорегуляторных механизмов.

Установление того факта, что уровень антиидиотипических АТ является низким у аутоиммунных пациентов, но высоким у здоровых индивидуумов, позволило выдвинуть предположение, что нарушение регуляции синтеза АИА аутореактивными В-клетками может служить одной из причин возникновения аутоиммунных заболеваний.

Проявление иммунорегуляторной активности показано в отношении Е-АТ к ДНК. Из препаратов иммуноглобулина для внутривенных инъекций выделяли свободные Е-АТ к ДНК методом аффинной хроматографии, а также исходно заблокированные (скрытые) анти-ДНК-АТ сочетанием методов ионообменной и аффинной хроматографии [102]. Свободные АТ к ДНК взаимодействовали с поверхностью тимоцитов (в связывании участвовали 5-6% клеток), не вызывая их повреждения, тогда как скрытые анти-ДНК-Е-АТ реагировали с 65% тимоцитов, повреждая их мембраны и вызывая гибель клеток.

Участие Е-АТ в механизмах нейроэндокринной регуляции было установлено при изучении вопроса о наличии естественных А-АТ с морфиноподобной активностью к  $\mu$ -типу опиоидного рецептора в пределах нормального человеческого пула IgG [103]. Исследовали пять IgG-пулов, каждый от четырех различных здоровых доноров и один пул от шести других здоровых лиц. Аффинная очистка каждого пула с использованием клеток китайского хомяка, экспрессирующих человеческий  $\mu$ -опиоидный рецептор, выявила присутствие Е-АТ против названного рецептора во всех IgG-образцах. Цитофлюориметрические и фармакологические исследования показали, что способность аффинно очищенных АТ к узнаванию  $\mu$ -опиоидного рецептора аналогична характеру связывания специфичных к нему селективных агонистов.

Известная биологическая активность ряда эндогенных низкомолекулярных соединений послужила основанием для изучения Е-АТ к гаптенам, поскольку позволяла предполагать, что связывание Е-АТ с такими биорегуляторами или их рецепторами может оказывать влияние на физиологические реакции организма.

При изучении Е-АТ к низкомолекулярным соединениям различными группами исследователей в качестве чужеродной антигенной детерминанты использовались гаптен ТНФ и другие нитропроизводные фенола [3, 23, 54, 55, 60, 63, 64]. В результате проведенных экспериментов оказалось, что Е-АТ к этим гаптенам выявляются в большинстве сывороток крови нормальных животных и здоровых людей. Кроме того, частота выявления Е-АТ

ТНФ-активности среди моноклональных Е-АТ существенно выше, чем для Е-АТ ко многим эндогенным АГ, таким, как ДНК, актин, миозин, тубулин, альбумин, тироглобулин, миоглобин и др. При этом гибридомы, полученные из клеток селезенки нормальных мышей, секретируют как моно-, так и полиспецифические Е-АТ к ТНФ и его аналогам [63,64]. Более того, при тестировании Е-АТ с панелью различных эндогенных АГ и ТНФ у больных СПИДом и СКВ самые высокие титры АТ обнаруживались именно для ТНФ [3,59]. Эксперименты на той же панели АГ с сыворотками пациентов, страдающих бугорковой лепрой, гемолитической анемией, хроническим гепатитом или циррозом, выявили, что эти сыворотки крови содержат значительно более высокие титры Е-АТ, чем у здоровых людей. В этих случаях также наивысшие уровни Е-АТ были отмечены в отношении ТНФ [3,59].

Исследования нормальных сывороток крови филогенетически различных видов рыб показали, что для каждого изученного вида выявлялись повышенные титры анти-ТНФ-Е-АТ [54].

Полученные данные об анти-ТНФ-активности Е-АТ, содержащихся в нормальных сыворотках крови людей, животных и рыб, а также выявляемых у лиц с заболеваниями различного происхождения, явились предпосылками для формирования предположения о неспецифической защите организма от инфекции этими анти-ТНФ-Е-АТ. Эта точка зрения получила экспериментальное доказательство [55]. В проводимом исследовании фибробласты форели инфицировали *in vitro* различными вирусами рыб известного общего действия в присутствии или отсутствии анти-ТНФ-Е-АТ, аффинно выделенных из сывороток крови нормальных или инфицированных экземпляров рыб. Подавляющее большинство выделенных Е-АТ показывали высокую активность в отношении ТНФ-БСА в твердофазном ИФА, проявляя слабую связывающую способность к восьми другим АГ. Этими АГ служили мышечные актин, миозин и тубулин, сами вирусы — *viral haemorrhagic septicaemia virus* и *infectious pancreatic necrosis virus*, нативная двуспиральная ДНК, тироглобулин и гемоглобин. В качестве контрольных объектов использовали те немногие нормальные сыворотки крови, которые не содержали Ig с анти-ТНФ-активностью. Они реагировали со всеми АГ, кроме ТНФ-БСА. Аффинно выделенные анти-ТНФ-Е-АТ даже в высоких концентрациях нейтрализовали сами вирусы только частично. С другой стороны, Е-АТ, несмотря на характер исходной сыворотки крови (нормальная или инфицированная) или вида используемого вируса, демонстрировали высокую протективную активность при добавлении в клеточную культуру после вирусной инфекции.

Таким образом, защитная активность анти-ТНФ-Е-АТ обусловлена не прямой реакцией их с вирусом, а связыванием с мембранными компонентами фибробластов. Следовательно, поверхностные структуры клетки-фибробласта после взаимодействия с вирусом открывают новые эпитопы, которые с высокой аффинностью узнаются анти-ТНФ-естественными АТ. Такое связывание позволяет этим Е-АТ участвовать в неспецифическом защитном механизме против вирусной инфекции, препятствуя дальнейшему инфицированию клеток вирусом.

Использование в твердофазном ИФА синтетических АГ, представляющих собой конъюгаты адреналина, норадреналина или дофамина с полимерным носителем, позволило не только обнаружить Е-АТ к катехоламинам, но

и выявить повышение IgM-Е-АТ к норадреналину у 56% обследованных больных шизофренией, что свидетельствует об участии таких АТ в патологических реакциях нервной системы [74].

Выявление естественных IgG-антител, специфичных в отношении рецептора эндогенных морфиноподобных соединений организма, свидетельствует о возможности регуляции эффекторного действия биологически активных гаптенных путем блокирования их рецепторов соответствующими АТ [103].

Известно, что различные клинические состояния зависимых от наркотиков людей характеризуются значительными колебаниями в содержании нейромедиаторов, ацетилхолина, глутамата, моноаминов, вазоактивных пептидов, а также активности ряда ферментов, что связано с различными патоморфологическими изменениями в нервной и иммунной системах. В частности, ряд стадий опиоидной наркомании характеризуется повышенным выбросом катехоламинов (дофамина), усиленным выделением эндогенных опиатов, увеличением активности энкефалиназы А в структурах мозга. Получены новые данные о выявлении Е-АТ к спектру нейромедиаторов, пептидов, ферментов, участвующих в патогенезе наркомании, для комплексной оценки изменений, происходящих в иммунном статусе человека на различных стадиях данного заболевания [77,78,104]. Результаты проведенного исследования позволили существенно прояснить принципиальный вопрос о реакции гуморального звена иммунитета на развитие патологических процессов в ЦНС, а также создать основу для разработки методов ранней диагностики и профилактики подобного нейрозаболевания, выявления групп риска среди населения.

Гомеостатическая, защитная функция Е-АТ к низкомолекулярным эндогенным биорегуляторам была обоснована в работах Мягковой М.А., Полевой О.Ю. и соавторов [81–85, 104, 105]. В этих исследованиях на основе твердофазного ИФА проводился сравнительный анализ уровней Е-АТ у здоровых людей и больных различными аутоиммунными заболеваниями, развитие которых сопровождалось нарушением обмена соответствующих биорегуляторов. Разработанный метод ИФА был апробирован при определении АТ к дофамину и норадреналину в сыворотке крови больных с заболеваниями ЦНС [75]. Для исследования выбрали группу больных (32 чел.), страдающих шизофренией и 10 чел., больных рассеянным склерозом. Результаты показали, что уровень АТ к катехоламинам у больных перечисленных выше групп отличается от среднедонорского. При статистической обработке результатов оказалось, что в зависимости от характера изменения уровня антител к исследуемым антигенам больные разделяются на группы. При определении АТ к норадреналину у 56% больных шизофренией было обнаружено повышение уровня специфических IgM к данному АГ, а у 44% уровень АТ оставался в норме. В случае определения АТ к дофамину в обследуемой группе людей, страдающих шизофренией, нормальный уровень IgM для 40% больных. Необходимо отметить, что в этой же группе были обнаружены пациенты, имеющие как повышенный уровень АТ к дофамину по сравнению со среднедонорским (45%), так и пониженный (15%). В случае определения АТ в группе больных с рассеянным склерозом установлено, что примерно у половины пациентов наблюдается понижение уровня специфических IgM как к дофамину, так и к норадреналину. Полученные результаты свидетельствуют

ют о том, что разработанный метод твердофазного ИФА позволяет выявлять различные уровни АТ к катехоламинам у больных с патологическим состоянием ЦНС.

Проведено исследование по выявлению естественных АТ к биогенным аминам у больных СКВ, сопровождающейся симптомами нейроваскулита [76]. Эндогенные медиаторы — адреналин (А), норадреналин (НА), дофамин (ДА), гистамин (ГА), серотонин (СА) — участвуют в регуляции всех основных биохимических процессов в организме человека, и их содержание изменяется при развитии патологии. Известно, что СКВ относится к разряду аутоиммунных заболеваний и сопровождается гиперпродукцией иммуноглобулинов. Причем на фоне нарушения иммунитета происходит изменение и в функционировании нервной системы. Регуляторами этих процессов являются указанные выше нейромедиаторы. Вот почему определение уровня АТ к биогенным аминам позволяет, во-первых, установить факт существования таких иммуноглобулинов, а во-вторых, установить взаимосвязь между состоянием организма человека в норме и при патологии и содержанием Е-АТ к указанным биорегуляторам. Так, у всех обследованных больных СКВ обнаружено понижение уровня Е-АТ к IgG- и IgM-класса к ГА и СА по сравнению со среднедонорским (табл. 7). В случае определения АТ к катехоламинам в сыворотке крови больных СКВ наблюдалось достоверное понижение уровня IgG по сравнению с нормой у 87% больных к НА, у 92% — к А, у 84% — к ДА. При выявлении уровня е-аТ IgM-класса эти величины составили 17, 58, 25% к НА, А, ДА соответственно. Таким образом, установлено, что на фоне повышения общего уровня иммуноглобулинов происходит специфическое снижение Е-АТ к исследуемым биорегуляторам. Эти факты свидетельствуют об определенной физиологической роли Е-АТ в течение данного заболевания. Дальнейшее исследование связано с определением уровня АТ к ГА и СА у доноров и больных с нарушением функции нервной системы — это различные виды наркоманий, нейродермит и СКВ с нейроваскулитом. В качестве группы сравнения использовали больных стенокардией.

Для большинства больных СКВ характерно достоверное ( $P < 0,001$ ) понижение содержания АТ IgG- и IgM-класса к СТ. Для больных опийной и гашишной наркоманией можно наблюдать достоверное повышение содержания АТ IgM-класса к СТ ( $P < 0,001$ ). Полученный факт подтверждает известные данные об участии серото-

нинергической системы в развитии зависимости от наркотиков. Прием наркотика ведет к повышенному выбросу СТ, который, в свою очередь, оказывает влияние на синтез специфических иммуноглобулинов, способных, вероятно, выполнять компенсаторную функцию и регулировать концентрацию данного соединения.

Для группы больных гашишной и опийной наркоманиями содержание АТ IgM-класса было наиболее информативным и позволяло обнаружить большой процент пациентов с достоверным изменением уровня АТ по сравнению с нормой. Известно, что ГА является ключевым медиатором, участвующим в патогенезе аллергических заболеваний, затрагивающих функцию нервной системы. Нарушение метаболизма ГА, приводящее к увеличению содержания его в организме, наблюдается и при нейродермите [84, 85]. Из полученных результатов следует, что достоверное снижение содержания АТ к ГА у больных по сравнению с донорами выявляется только для АТ IgG-класса. Следует подчеркнуть, что снижение уровня АТ к ГА не наблюдается для IgM. Это свидетельствует о том, что синтез АТ IgM-класса более стабилен, так что патологические процессы, происходящие при нейродермите, не оказывают на него заметного влияния. Из совокупности представленных данных о содержании Е-АТ к моноаминам в норме и клинике заболеваний следует, что уровни этих АТ изменяются при патологических процессах, связанных с нарушением обмена их АГ-мишеней и, возможно, индуцированы этими нарушениями. Причем изменения уровней Е-АТ происходят таким образом, чтобы компенсировать патологические отклонения в метаболизме АГ и, тем самым, нейтрализовать их патогенетическое действие (если АГ активны). Это позволяет предположить, что Е-АТ выполняют в норме гомеостатическую или защитную функцию, поддерживая концентрации различных эндогенных соединений в пределах нормы. Патологическая роль Е-АТ может проявляться лишь при их чрезмерной продукции, связанной, возможно, с нарушением регуляции их синтеза, и может рассматриваться в этом случае как симптом аутоиммунного расстройства или, наоборот, при недостаточной их продукции, в результате специфического иммунодефицита (у больных нейродермитом и СКВ), в этом случае проявляется патологическая роль не Е-АТ, а их АГ-мишени.

Проведено исследование по определению Е-АТ к тромбину и его ингибиторам — антитромбину III и

Таблица 7

Данные ИФА определения антител IgG- и IgM-класса к гистамину в сыворотках крови доноров и больных

Диагноз	Среднее значение оптической плотности (OD492) в ИФА				
	Антитела класса	Повышенное содержание антител	Нормальное содержание антител	Пониженное содержание антител	Доноры
Системная красная волчанка	IgG	0,95±0,012	0,50±0,010	0,34±0,010	0,71±0,031
	IgM	0,95±0,018	0,69±0,015	0,58±0,028	0,71±0,031
Опийная наркомания	IgM	0,80±0,020	0,40±0,028	—	0,42±0,012
Гашишная наркомания	IgM	0,79±0,040	0,43±0,035	—	0,42±0,012
Стенокардия	IgM	0,77±0,010	0,54±0,011	0,39±0,015	0,55±0,018
Нейродермит	IgG	—	0,55±0,28	0,33±0,021	0,57±0,015

2-макроглобулину [104]. Установили отсутствие достоверного изменения уровня АТ к указанным протеинам у больных наркоманией и нейродермитом, в то время как у больных стенокардией отмечено значительное повышение содержания Е-АТ к тромбину и снижение их уровня к его ингибиторам. Эти факты, вероятно, свидетельствуют о том, что данная система биорегуляторов гемостаза не является ключевой при развитии указанных патологий (наркомания, нейродермит) и происходит без участия гуморальных факторов иммунитета. С другой стороны, сердечно-сосудистые заболевания характеризуются изменением системы гемостаза, и в этом случае мы наблюдаем повышение уровня АТ к тромбину.

Полученные результаты являются основой для содержания нового диагностического подхода для оценки состояния организма человека на основе определения иммунного статуса и участия ряда гуморальных факторов, к которым относятся Е-АТ, в развитии и регуляции патологических процессов.

Это хорошо подтверждается авторами работ [81–85]. Известно, что при сердечно-сосудистых заболеваниях наблюдается значительное увеличение в крови простагландинов, особенно простагландина F<sub>2</sub> (PGF<sub>2</sub>), а для нейродермита характерно повышенное содержание ГА. В связи с этим авторами указанных работ изучался вопрос о роли Е-АТ к PGF<sub>2</sub> и ГА в патогенезе названных заболеваний.

Поскольку Е-АТ могут находиться в крови как в виде свободно циркулирующих АТ, так и связанных в иммунные комплексы (ИК), их выявляли не только в нативных сыворотках, но и в обработанных органическими растворителями, разрушающими ИК. В этом случае высвобождение АТ позволяло определить общее содержание исследуемых Е-АТ и более адекватно оценить их физиологическую роль в организме.

В нативных и обработанных органическими растворителями сыворотках крови практически здоровых доноров, а также лиц, страдающих гипертонической болезнью (ГБ) или инфарктом миокарда (ИМ) определяли содержание ЕА-АТ класса G к PGF<sub>2</sub> [82, 84]. При исследовании нативных сывороток крови доноров и больных выявлен относительно невысокий уровень свободно-циркулирующих анти-PGF<sub>2</sub>-АТ, причем их содержание во всех обследованных группах было практически одинаковым. Обработка исследуемых сывороток органическими растворителями привела к резкому увеличению количества выявляемых АТ к PGF<sub>2</sub>. Общий уровень таких АТ (свободно циркулирующих и связанных в ИК) у больных был достоверно выше, чем у доноров. Более того, в результате последующего изучения сывороток с разрушенными ИК [81,85] была выявлена корреляция между уровнями анти-PGF<sub>2</sub>-АТ и изменением артериального давления (АД) при развитии ГБ и ИМ, а также обнаружено закономерное изменение в содержании АТ к PGF<sub>2</sub> при нарушениях сердечного ритма, проявляющихся в зависимости от течения ИМ. Так, среди больных ГБ, у которых до госпитализации регистрировалось повышенное АД на фоне ухудшения самочувствия, исходный уровень анти-PGF<sub>2</sub>-АТ был ниже, чем у доноров. В противоположность этому, больные, у которых криз развился на фоне нормального АД, отличались достоверно более высоким, чем у доноров, содержанием АТ к PGF<sub>2</sub>. При ИМ также выявлялась зависимость содержания анти-PGF<sub>2</sub>-АТ от АД. У всех больных с появлением или прогрессированием стенокардии перед ИМ и повышенным АД при госпитализации количество АТ к PGF<sub>2</sub> оказалось ниже, чем у доноров,

а у больных, поступивших с нормальным АД, достоверно выше, чем в контрольной группе. Кроме того, достоверное увеличение содержания А-АТ к PGF<sub>2</sub> наблюдалось у больных инфарктом, сопровождающимся брадиаритмиями, в то время как при сопутствующих тахикардиях уровень АТ к PGF<sub>2</sub> был ниже, чем у доноров, или не отличался от контрольного.

В результате проведенных исследований установлено наличие спонтанного синтеза Е-АТ к эндогенному низкомолекулярному соединению PGF<sub>2</sub>. Присутствие таких АТ в сыворотках крови здоровых доноров свидетельствует, что продукция анти-PGF<sub>2</sub>-АТ является нормальным физиологическим процессом. В совокупности с известным фактом, что PGF<sub>2</sub> является вазоконстриктором, способствующим повышению АД, и обладает положительным хронотропным действием на миокард, полученные данные позволяют сделать вывод, что Е-АТ к PGF<sub>2</sub> выступают как антагонисты этого медиатора и, нейтрализуя его патогенетическое действие, обеспечивают защитный эффект при ГБ и ИМ.

Для изучения роли Е-АТ к ГА в патогенезе нейродермита был проведен сравнительный анализ сывороток крови лиц с этим заболеванием и доноров на содержание АТ к ГА, а также в качестве контроля специфичности, к PGF<sub>2</sub> [83]. При этом определяли уровни АТ как G-, так и M-класса в нативных и обработанных органическими растворителями сыворотках крови. В результате исследования этих сывороток крови было обнаружено, что у больных нейродермитом в начальный период обострения болезни достоверно, по сравнению с нормой, снижен уровень IgG-АТ к ГА. Этот уровень повышается до нормального в случае эффективного лечения, но остается сниженным при неэффективной терапии. Анализ нативных сывороток крови не выявил достоверных различий в содержании антигистаминовых АТ у больных и доноров. Не было обнаружено различий между этими группами людей и в уровнях АТ к PGF<sub>2</sub>, определяемых как в нативных, так и обработанных ацетоном сыворотках крови. Никаких изменений в уровнях Е-АТ класса M у пациентов с нейродермитом, по сравнению с донорами, не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют о специфичности выявляемых IgG-АТ в отношении гистамина и о зависимости продукции таких АТ от концентрации их АГ-мишени, возрастающей при нейродермите. Напротив, для IgM-АТ показан конститутивный синтез, не зависящий от нарушений метаболизма гистамина, происходящих при рассматриваемом патологическом процессе. В результате проведенные исследования позволили сделать вывод о защитной роли Е-АТ к гистамину, поскольку увеличение их содержания способствует повышению резистентности организма к патологическому процессу, в развитии которого центральную роль играет их АГ-мишень — ГА.

Таким образом, разноплановые исследования Е-АТ позволили установить их принадлежность к основным классам иммуноглобулинов — M, G, A. Репертуар таких АТ кодируется зародышевой линией генов с ограниченным числом мутаций, что обеспечивает их конститутивный синтез в физиологических условиях. Для этих АТ характерны полиреактивность и меньшая аффинность по сравнению с АТ, индуцированными активной иммунизацией. Е-АТ способны принимать участие в широком спектре физиологических реакций организма: от иммунного регулирования, обеспечения внутреннего гомеоста-

за, неспецифической барьерной роли против чужеродных патогенных АГ до транспортной функции и модуляции действия биологически активных веществ.

Е-АТ могут связываться с эндогенными биорегуляторами, устраняя нежелательное физиологическое действие при повышении содержания их в крови в случае возникновения заболевания или других нарушений. В связи с этим уровень Е-АТ взаимосвязан с течением всех процессов, включая регуляторные в норме и патологические при функциональных расстройствах, происходящих в организме, обусловленных нарушением обмена эндогенных веществ. Высокая перспективность применения методов выявления Е-АТ к эндогенным биорегуляторам различной природы связана с тем, что АТ как белковые молекулы являются стабильными носителями информации о процессах, происходящих в организме, по сравнению с самими биорегуляторами, которые существуют, как правило, в кровотоке в очень низких концентрациях короткое время.

Изложенные выше идеи легли в основу изучения взаимодействия между иммунной и центральной нервной системами. Установление зависимости уровня Е-АТ к специфическим маркерам нейродегенеративных расстройств, в частности при наркомании, от других биохимических показателей подобных заболеваний позволяет дать развернутую характеристику связи факторов гуморального иммунитета с патологическими процессами, происходящими в организме человека. Полученные результаты можно рассматривать как новые подходы к ранней диагностике, профилактике и коррекции ряда сложных нейродегенеративных заболеваний человека, в том числе связанных с зависимостью от наркотика.

### Список литературы

1. Boyden S.V. // *Advances in Immunology* / Ed. by Dixon F.J., Hnumphe J.H. — New York: Academic. Press, 5. — P. 1—28.
2. Grabar P. // *Clin. Immunol. Immunopathol.* — 1975. — Vol. 4 (4). — P. 453—466.
3. Avrameas S., Guilbert B., Mahana W. // *Intern. Rev. Immunol.* — 1975. — Vol. 3. — P. 1—15.
4. Coutinho A., Kazatchkine M.D., Avrameas S. // *Curr. Opin. Immunol.* — 1995. — Vol. 7 (6). — P. 812—818.
5. Мигунов В.Н., Ястребова Н.Е., Вансеева Н.П. I Национальная конференция Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов: Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакол. — Москва, 1997. — С. 292.
6. Ailus K., Palosuo T. // *J. Reprod. Immunol.* — 1995. — Vol. 29 (1). — P. 61—67.
7. Daar A.S., Fabr J.W. // *Clin and Exptl. Immunol.* — 1981. — Vol. 45. — P. 37—47.
8. Stankova I., Prokesova L., Trojan S. // *Physiol. Res.* — 1996. — Vol. 45 (6). — P. 27.
9. Guilbert B., Dighiero G., Avrameas S. // *J. Immunol.* — 1998. — Vol. 128 (6). — P. 2779—2787.
10. Wing M.G. // *Clin. and Exp. Immunol.* — 1995. — Vol. 99 (3). — P. 313—315.
11. Kay M.M.B., Sorensen K., Wong P., Bolbon P. // *Mol. Cell. Biochem.* — 1982. — Vol. 49 (2). — P. 65—85.
12. Khansari N., Fudenberg H. // *Cell. Immunol.* — 1983. — Vol. 80 (2). — P. 426—430.
13. Levy M., Fridman W.H., Neauport-Santes C. *Cell. Immunol.* — 1982. — Vol. 71 (2). — P. 241—253.
14. Moticka E.J. // *Cell. Immunol.* — 1983. — Vol. 81 (1). — P. 28—35.
15. Martin W.J., Martin S.E. // *Nature.* — 1975. — Vol. 254. — P. 716—718.
16. Ochiai T., Ahmed J., Scher K. // *Transplantation.* — 1976. — Vol. 22 (1). — P. 1—8.
17. Scollay R.C., Butcher E. C., Weissman I. // *Europ. J. Immunol.* — Vol. 10. — P. 210.
18. Eisenberg R.A., Theofilopoulos A.N., Andrews B.C. // *J. Immunol.* — 1979. — Vol. 122 (6). — P. 2272.
19. Sing V.K., Hoffman M.A. // *Immunol. Letters.* — 1984. — Vol. 7 (5). — P. 249.
20. Poulsen E., Hjort T.J. // *Clin. and Lab. Immunol.* — 1981. — Vol. 6 (1). — P. 69—74.
21. Cervenak J., Kiss K., Uher F. // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* — 1999. — Vol. 46 (1). — P. 53—62.
22. Diaw L., Magnac C., Pritsch O. // *J. Immunol.* — 1997. — Vol. 158 (2). — P. 968—976.
23. Dighiero G., Lymberi P., Holmberg D. // *J. Immunol.* — 1985. — Vol. 134 (2). P. 765—771.
24. Eliat D., Hochberg M., Pumphrey J. // *J. Immunol.* — 1985. — Vol. 133 (1). — P. 489—494.
25. Fucikova T., Cermakova J., Mareckova H. // *Cas. Lek. Cesk.* — 1998. — Vol. 137 (2). P. 55—58.
26. Madaio M.P., Schattner A., Schattner M. // *J. Immunol.* — 1986. — Vol. 137 (8). — P. 2535—2543.
27. Reichlin M. // *Clin. and Exp. Immunol.* — 1995. — Vol. 99 (1). — P. 7—9.
28. Holborow E.I., Weir D.M., Johnson G.D. // *Brit. Med.* — 1957. — Vol. 2. — P. 732—734.
29. Fish F., Ziff M. // *J. Immunol.* — 1982. — Vol. 127. — P. 409—414.
30. Sawada S., Talal N. *J. Immunol.* — 1979. — Vol. 122 (6). — P. 2309.
31. Pisetsky D., Caster S. // *Cell. Immunol.* — 1982. — Vol. 72 (2). — P. 294—305.
32. Caspary E.A., Gubbay S.S., Stern G.M. // *Lancet.* — 1964. — Vol. 2 (7366). — P. 941.
33. Nishioka M., Watanabe S., Kabayashi K. // *Clin. and Exptl. Immunol.* — 1983. — Vol. 53. — P. 159—164.
34. Wada K., Ueno S., Harzana T. // *Clin. and Exptl Immunol.* — 1983. — Vol. 52 (2). — P. 297—304.
35. Avrameas S., Guilbert B., Dighiero G. // *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur).* — 1981. — Vol. 132. — P. 231—236.
36. Абраменко Т.В., Панченко О.Н., Мягкова М.А., Кост О.А., Никольская И.И., Чемоданова Е.Е., Агапов А.А. // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 2000. — Вып. 12. — С. 22—24.
37. Мягкова М.А., Абраменко Т.В., Киселев И.П., Станислав М.Л., Кост О.А., Никольская И.И., Гарац Е.В., Алекперов Р.Т. // *Вестник московского университета.* — 2000. — Вып. 41 (6).
38. Hurez V., Kazatchkine M.D., Vassilev T. // *Blood.* — 1997. — Vol. 90 (10). — P. 4004—4013.
39. Jackson S., Montgomery R.J., Mestecky J. // *J. Immunol.* — 1987. — Vol. 138 (7). — P. 2244—2248.
40. Friedman J. // *Thrombosis Res.* — 1978. — Vol. 13 (4). — P. 681—688.
41. Nouborg C. // *Biochem. Z.* — 1910. — Vol. 26. — P. 344—350.
42. Knut A., Lloyd K.O., Lipkin M. // *Internat. J. Cancer.* — 1983. — Vol. 32 (2). — P. 199—204.
43. Жуков-Вережников Н.Н., Ломакин М.С., Майский И.Н. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* — 1981. — Вып. 9. — С. 331.
44. Ломакин М.С., Майский И.Н., Ларин А.С. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* — 1977. — Вып. 1. — С. 65.
45. Colnaghi M.J., Menard S., Togliabue E. // *J. Immunol.* — 1982. — Vol. 128. — P. 2757.
46. Minden P., Sharpton T. // *Cancer. Res.* — 1976. — Vol. 36. — P. 1680.
47. Bucana C., Hanna M.J. // *J. Nat. Cancer Inst.* — 1974. — Vol. 53. — P. 1313.
48. Kwapinski G., Oliver H., Kwapinski E. // *Oncology.* — 1978. — Vol. 35 (6). — P. 263—266.
49. Avrameas S., Dighiero G., Lymbery., Guilbert B. // *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur).* — 1983. — Vol. 134. — P. 103—113.
50. Coutinho. A. // *Res. Immunol.* — 1995. — Vol. 146 (4—5). — P. 321—332.
51. Dighiero C., Lymberi P., Masie J.C. // *J. Immunol.* — 1983. — Vol. 131 (5). — P. 2267—2272.

52. Dighiero G., Guilbert B., Avrameas A. // J. Immunol. — 1982. — Vol. 128 (6). — P. 2787—2792.
53. Dighiero G., Lymbery P., Guilbert B. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1986. — Vol. 475. — P. 134—144.
54. Gonsales R., Charlemagne J., Mahana W. // Immunology. — 1988. — Vol. 63 (1). — P. 31—36.
55. Gonsales R., Matsiota P., Torchy C. // Res. Immunol. — 1989. — Vol. 140 (7). — P. 675—684.
56. Guilbert B., Mahana W., Gilbert M. // Immunology. — 1985. — Vol. 56 (3). — P. 401—408.
57. Karray S., Lymbery P., Avrameas S. // Scand. J. Immunol. — 1986. — Vol. 23. — P. 475—480.
58. Lacroix-Desmazes S., Kaveri S.V., Mouthon L. // J. Immunol. Methods. — 1998. — Vol. 216 (1—2). — P. 117—137.
59. Matsiota P., Chamaret S., Montagnier L., Avrameas S. // Ann. Immunol. (Inst. Pasteur). — 1987. — Vol. 138. — P. 223—233.
60. Ragimbeau J., Avrameas S. // Scand. J. Immunol. — 1987. — Vol. 26. — P. 29—35.
61. Ternynck T., Avrameas S. // Immunol. Rev. — 1986. — Vol. 94. — P. 99—112.
62. Glotz D., Zanetti M. // J. Immunol. — 1986. — Vol. 137 (1). — P. 223—227.
63. Serban D., Kordorf-Adan C., Sun Y.-Z. // J. Immunol. — 1985. — Vol. 135 (5). — P. 3122—3127.
64. Zouali M., Migliorini P., Stollar B.D. // Eur. J. Immunol. — 1987. — Vol. 17 (4). — P. 509—513.
65. Robbins J., Rall J.E., Rawson R.W. // J. Clin. Endocrinol. Metabol. — 1956. — Vol. 16 (5). — P. 573—579.
66. Calzi L., Battiato S., Santini F. // Clin. Chem. — 1988. — Vol. 34 (12). — P. 2561—2562.
67. Delves P.J., Roitt I.M. // Clin. Exp. Immunol. — 1984. — Vol. 57 (1). — P. 33—40.
68. Trimarchi T., Benvenga S., Fenzi G.J. // Clin. Endocrinol. Metabol. — 1982. — Vol. 54 (5). — P. 1045—1051.
69. Cosenza M. // Europ. J. Immunol. — 1976. — Vol. 6. — P. 114.
70. Hirata M., Kakizuka A., Aizawa M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — Vol. 91 (23). — P. 11192—11196.
71. Stein L.D., Sigal N.H. // J. Immunol. — 1984. — Vol. 132 (3). — P. 1329.
72. Pengo V., Ruffati A., Baritussio A. // Folia Haematol. — 1984. — Vol. 111 (5). — P. 681—685.
73. Souan M.L., Geffard M., Lebrin-Grauder P. // Neurosci. Lett. — 1986. — Vol. 64 (1). — P. 23—28.
74. Мягкова М.А., Трубочева Ж.Н., Панченко О.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. — 1997. — Вып. 3. — С. 8—10.
75. Мягкова М.А., Панченко О.Н., Трубочева Ж.Н. // Клиническая диагностика. — 1997. — Вып. 6. — С. 18—19.
76. Мягкова М.А., Савицкий А.А., Станислав М.Л. // Российская ревматология. — 1998. — Вып. 5. — С. 13—15.
77. Мягкова М.А., Савицкая Ю.А., Панченко О.Н. // Химико-фармацевтический журнал. — 1999. — Вып. 5. — С. 3—5.
78. Мягкова М.А., Бачурин С.О., Савицкий А.А., Станислав М.Л. // Клиническая лабораторная диагностика. — 1999. — Вып. 4. — С. 20—24.
79. Мягкова М.А., Гаврилова С.И., Лермонтова Н.Н., Бачурин С.О. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2001. — Вып. 131 (2). — С. 156—159.
80. Мягкова М.А., Гаврилова С.И., Лермонтова Н.Н. и др. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2002. — Вып. 132 (1). — С. 89—93.
81. Корочкин И.М., Вербицкая И.А., Крупник В.Е. // Кардиология. — 1988. — Вып. 4. — С. 41—44.
82. Крупник В.Е., Данилова Н.П., Полевая О.Ю. // Кардиология. — 1987. — Вып. 8. — С. 89.
83. Крупник В.Е., Полевая О.Ю., Самсонов В.А. // Вестник дерматологии и венерологии. — 1987. — Вып. 11. — С. 12—14.
84. Полевая О.Ю., Данилова Н.П., Крупник В.Е. // Тезисы докладов всесоюзного симпозиума: Синтез и исследование простагландинов. — Таллин, 1986. — С. 47.
85. Полевая О.Ю., Крупник В.Е. // Иммунология. — 1988. — Вып. 3. — С. 88—90.
86. Korochkin I.M., Verbitskaya I.A., Kroupnik V.E. // 10th World Congress of Cardiology. — Washington, 1986. — P. 220.
87. Yachic A., Konno A., Ohta K. // Clin. and Exp. Immunol. — 1995. — Vol. 102 (1). — P. 204—209.
88. Galili U., Rachmilewitz E.A., Peleg A. // J. Exp. Med. — 1984. — Vol. 160 (5). — P. 1519—1531.
89. Whitaker A.N., McFarlane J.R., Rowe E.A. // Thromb. Haemostasis. — 1985. — Vol. 53 (1). — P. 80—85.
90. Chen P.P., Albrandt K., Orida N.K. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1986. — Vol. 83 (21). — P. 8318—8322.
91. Данилова Т.А. // Иммунология. — 1987. — Вып. 4. — С. 5—11.
92. Sansonno D.E., DeTomaso P., Papanice M.A. // J. Immunol. Meth. — 1986. — Vol. 90 (1). — P. 131—136.
93. Grabar P. // Les Globulines du Serum Sanguin. — Liege, 1947. — P. 25.
94. Grabar P. // Lancet. — 1974. — Vol. 1 (7870). — P. 1320—1322.
95. Grabar P. // Immunol. Today. — 1983. — Vol. 4 (12). — P. 337—340.
96. Hinter H., Romani N., Stanzl U. // J. Invest. Dermatol. — 1987. — Vol. 88. — P. 176—182.
97. Осипов С.Г., Бабаян Г.В., Ермолин Г.А. // Лабораторное дело. — 1986. — Вып. 9. — С. 550—552.
98. Nardiello S., Pizella T., Rucso M., Galanti B. // J. Immunol. Meth. — 1985. — Vol. 76 (1). — P. 121—127.
99. Kluskens L., Kohler H. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1974. — Vol. 71 (12). — P. 5083.
100. Rowley D.A., Fitch F.W., Stuart F.P. // Science. — 1973. — Vol. 181 (4105). — P. 1133—1141.
101. Vaki M., Sauter H., Paige C. // Eur. J. Immunol. — 1986. — Vol. 16. — P. 1159—1165.
102. Zamulaeva I.A., Lekakh I.V., Kiseleva V.I. // FEBS Lett. — 1993. — Vol. 413 (2). — P. 231—235.
103. Mace G., Blanpied C., Emorine L.J. // Eur. J. Immunol. — 1999. — Vol. 29 (3). — P. 997—1003.
104. Мягкова М.А., Савицкий А.А., Бачурин С.О., Панченко О.Н. // Иммунология. — 1999. — Вып. 4. — С. 52—55.
105. Мягкова М.А., Панченко О.Н. // Иммунология. — 1994. — Вып. 4. — С. 56—59.

#### THE NATURAL ANTIBODIES TO ENDOGENOUS BIOREGULATORS IN ADDICTION PATHOGENESIS (REVIEW)

MJAGKOVA M.A. Dr.med.sci., professor, Chief of immunol lab., Institute of Physiological Active Compounds, Chernogolovka

PANCHENKO L.F., Academician, RAMS, professor, Chief of Biochem. Dept. of NRCN, Moscow

*This review summarizes essential information on the most common properties of natural antibodies. It presents the analysis to the clinical and immunological research in this field. Special attention is paid to the main immunoregulation principles of a homeostasis and the role of natural antibodies in these processes. Physiological effects and the mechanism of immunoglobulin action with different antigens are considered. Some aspects relating to the role of the antibodies in the pathogenesis of neurodegenerative brain processes and narcotic-dependent state are brouched. The potential of antibodies detection methods for the diagnostics of diseases and the evaluation of relation between the humoral immunity and the general regulation system of designed individual approaches in the narcotism precautions is demonstrated.*