

АКТИВАЦИЯ КОМПЛЕМЕНТА У ЖЕНЩИН С РАННЕЙ ПОТЕРЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ И АУТОАНТИТЕЛАМИ К ФОСФОЛИПИДАМ И ХОРИОНИЧЕСКОМУ ГОНАДОТРОПИНУ

Менжинская И.В., Ванько Л.В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва

COMPLEMENT ACTIVATION IN WOMEN WITH EARLY PREGNANCY LOSS AND AUTOANTIBODIES AGAINST PHOSPHOLIPIDS AND CHORIONIC GONADOTROPIN

Menzhinskaya I.V., Vanko L.V.

National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Система комплемента - важный компонент врожденного и приобретенного иммунитета, представляет собой каскадную систему протеолитических ферментов, состоящую приблизительно из 50 протеинов, включающих активаторы, регуляторы и рецепторы компонентов комплемента. Активация комплемента может осуществляться по классическому, лектиновому и альтернативному путям. Классический путь активации комплемента является главным в защите от заболеваний иммунных комплексов.

Классический путь комплемента инициируется активацией компонента C1, который представляет собой комплекс трех белков C1q, C1r и C1s. C1q является катионным гликопротеином с гексамерной структурой, состоит из N-терминальной коллагеноподобной части и C-терминального глобулярного домена [1], через который молекулы C1q связываются с Fc доменами антител (CH2 IgG или CH3 IgM) в иммунных комплексах с чужеродными или собственными антигенами и индуцируют активацию других компонентов C1. Главная физиологическая функция C1q – участие в клиренсе иммунных комплексов и апоптотических телец [2, 3]. Нарушение этого процесса может привести к развитию аутоиммунитета.

Описанные в литературе высоко аффинные анти-C1q аутоантитела, распознающие колла-

геноподобную часть молекулы C1q, выявляются при целом ряде системных аутоиммунных и инфекционных заболеваний [2, 4]. В здоровой популяции частота встречаемости анти-C1q аутоантител колеблется от 2% до 8% и повышается с возрастом, достигая 18% в возрасте 70-80 лет. Распространенность анти-C1q аутоантител при системной красной волчанке составляет 30-60% [5]. Определение анти-C1q антител имеет значение для прогнозирования развития волчаночного нефрита, его рецидивов и используется для мониторинга активности заболевания. Повышенная распространенность анти-C1q аутоантител (21-30%) наблюдается также при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы, при этом уровень антител коррелирует с ее функцией [6]. Анти-C1q аутоантитела выявляются у ВИЧ-инфицированных людей (у 13%) и больных, страдающих гепатитом С (у 26%) [7].

При антифосфолипидном синдроме (АФС) активация системы комплемента вовлекается в патофизиологию осложнений беременности, что подтверждается в экспериментах на лабораторных животных с недостаточностью комплемента или с введением антител к комплементу [8, 9, 10]. У пациенток с АФС активируется классический путь комплемента, который инициируется компонентом C1q. Активация системы комплемента выявляется также у женщин с

повышенной продукцией антител к хорионическому гонадотропину (ХГ), при этом отмечается повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов, содержащих С1q (у 36%) [11].

В связи с этим цель настоящей работы: оценить состояние системы комплемента и распространенность аутоантител к С1q компоненту комплемента у женщин с ранней потерей беременности и аутоантителами к фосфолипидам и ХГ.

Материалы и методы.

Иммунологические исследования включали определение антител (IgM, IgG) к фосфолипидам (кардиолипину, фосфатидилсерину) и фосфолипид-связывающим протеинам (β 2-гликопротеину-I, аннексину V, протромбину) с использованием наборов фирмы ORGENTEC Diagnostika (Германия), а также аХГ методом непрямого ИФА с использованием микропланшетов (Nunc MaxiSorp, Дания), сенсibiliзировавшихся ХГ посредством мышинных моноклональных антител к α -субъединице гормона (Sigma Aldrich, США), конъюгатов мышинных моноклональных антител к IgM и IgG человека с пероксидазой хрена (АО Вектор-Бест, Россия) [11]. Образцы сыворотки крови исследовали в разведении 1:100 однократно в дублях. Оптическую плотность (ОП) измеряли на фотометре MULTISKAN EX (Thermo Electron (Shanghai) Instrument Co.) при длине волны 450 нм. Результат считали положительным, если средняя ОП образца превышала более чем на три стандартных отклонения среднюю ОП отрицательного контроля.

Активность системы комплемента оценивали по уровню компонентов комплемента С3 и С4 с использованием иммуноферментных наборов фирмы ASSAYPRO (США). Анти-С1q антитела класса IgG определяли в сыворотке крови с помощью иммуноферментных наборов ORGENTEC Diagnostika.

Основную группу составляли 123 пациентки с потерей беременности в I триместре, включая 26(21%) женщин с привычным выкидышем, $31,4 \pm 4,6$ лет, из них 45 женщин, позитивных на антифосфолипидные антитела (аФЛ), и 78 женщин, позитивных на аХГ. Контрольную группу составили здоровые женщины с нормальным уровнем аФЛ и аХГ (n=38) $30,2 \pm 3,7$ лет.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 10 (StatSoft Inc., США), MedCalc v.12. Достоверность различий между группами определяли с использованием U-теста Манна-Уитни, при сравнении частот рассчитывали относительный риск и отношение шансов, наличие взаимосвязи между переменными оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Повышенные уровни аФЛ в сыворотке крови имели 45(36,6%) пациенток: к кардиолипину - 27(60%), IgM - 19(42,2%), IgG - 16(35,6%); к фосфатидилсерину - 27(60%), IgM - 18(40%), IgG - 14(31,1%); к β 2-гликопротеину-I - 34(75,6%), IgM - 23(51,1%), IgG - 19(42,2%); к аннексину V - 8(17,8%), IgM - 1(2,2%), IgG - 8(17,8%); к протромбину - 5(11,1%), IgM - 1(2,2%), IgG - 4(8,8%). У 78 пациенток в сыворотке крови определялся повышенный уровень аХГ: у 13(16,7%) - IgM; у 66(84,6%) - IgG.

Активность системы комплемента у пациенток оценивали по уровню компонентов комплемента С3 и С4. Как известно, С3 является центральным компонентом системы комплемента, который участвует во всех трех путях активации комплемента. Уровень компонента С3 у 86(70%) пациенток с невынашиванием беременности был ниже нормы (0,83-1,93 г/л). Медианные уровни С3 у пациенток с аФЛ 0,601 [0,475-1,362] г/л и аХГ 0,591 [0,406-1,168] г/л были ниже, чем в контрольной группе 0,947 [0,825-1,328] г/л ($p=0,0016$; $p=0,0122$). Снижение содержания С3 могло быть следствием его потребления при активации классического и альтернативного пути комплемента. Гипокомплементемия часто выявляется у пациентов с первичным АФС, отражая активацию и потребление комплемента [9].

С4 является вторым после С1 компонентом комплемента, принимающим участие в начальном этапе активации системы комплемента по классическому пути. Несмотря на то, что значительное снижение уровня С4 ниже нормы (0,15-0,57 г/л) наблюдалось только у 6 пациенток с аФЛ, медианные уровни С4 у пациенток с аФЛ 0,266 [0,03-0,389] г/л и аХГ антителами 0,296

[0,145-0,454] г/л были ниже, чем в контрольной группе 0,387 [0,305-0,458] г/л ($p=0,0026$; $p=0,0152$). У женщин с ранней потерей беременности и аФЛ или аХГ отмечалась тенденция к снижению уровня С4.

У пациенток с АФС при активации системы комплемента в результате каскадной реакции продуцируются анафилатоксины, которые усиливают активацию моноцитов, тромбоцитов или эндотелиальных клеток [8]. Активация этих клеток индуцирует экспрессию тканевого фактора, молекул адгезии и агрегацию тромбоцитов. В научной литературе пока нет единого мнения о патогенетическом значении анти-С1q аутоантител. Ряд авторов предполагают, что в присутствии С1q-содержащих иммунных комплексов в тканях анти-С1q аутоантитела могут усиливать местную активацию комплемента и повреждение тканей, а также активацию комплемента на апоптотических клетках [7]. Анти-С1q антитела могут способствовать усилению активации классического пути комплемента путем дополнительного генерирования С3, а также повышая количество связанного IgG. Кроме того, молекулы С1q могут связываться непосредственно с анионными фосфолипидами или фосфолипид-связывающими протеинами, экспрессированными на поверхности ткани/клеток у пациентов с АФС, и активировать систему комплемента независимо от наличия иммунных комплексов, а аутоантитела, взаимодействуя с С1q в связанном состоянии, могут ее усилить [12].

Повышенные уровни анти-С1q IgG (>10 Ед/мл) были обнаружены у 22(17,9%) пациенток с невынашиванием беременности: у 9(20%) с аФЛ и у 13(16,7%) с аХГ. Анти-С1q антитела выявлялись чаще у пациенток с невынашиванием беременности, чем у здоровых женщин (у 1(2,6%); $p=0,0366$). При наличии аФЛ отмечался высокий риск повышения продукции анти-С1q аутоантител (OR=9,3 [1,114-76,783]; $p=0,0394$). Медианные уровни анти-С1q антител у пациенток с аФЛ (4,1 [1,2-86,1] Ед/мл) и аХГ (6,2 [1,7-83,6] Ед/мл) были выше, чем в контрольной группе (2,45 [1,0-11,3] Ед/мл) ($p=0,0004$; $p<0,0001$).

Таким образом, у пациенток с ранней потерей беременности и аутоантителами к фосфолипидам, фосфолипид-связывающим протеинам и ХГ

часто наблюдалась активация или тенденция к активации системы комплемента, анти-С1q антитела выявлялись чаще, а их средний уровень был выше, чем у здоровых женщин, при наличии антифосфолипидных антител отмечался значительный риск повышения уровня анти-С1q антител.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kouser L., Madhukaran S.P., Shastri A. et al. Emerging and Novel Functions of Complement Protein C1q // *Front. Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P.1-19.
2. Kallenberg C.G. Anti-C1q autoantibodies // *Autoimmun. Rev.* – 2008. – Vol. 7. – P. 612-5.
3. Potlukova E., Kralikova P. Complement component C1q and anti-C1q antibodies in theory and in clinical practice // *Scand. J. Immunol.* – 2008. – Vol. 67. – P. 423-30.
4. Stoyanova V., Petrova S., Tchorbadjieva M. et al. New insight into the autoimmunogenicity of the complement protein C1q // *Mol. Immunol.* – 2011. – Vol. 48. – P. 678-82.
5. Цанян М.Э., Александрова Е.Н., Соловьев С.К., Насонов Е.Л. Антитела к С1q при системной красной волчанке биологический маркер активности, предиктор развития нефрита и неблагоприятного жизненного прогноза // *Науч.-практич. ревматол.* – 2013. – Т. 51, № 1. – С.71-5.
6. Potlukova E., Jiskra J., Limanova Z. et al. Autoantibodies against complement C1q correlate with the thyroid function in patients with autoimmune thyroid disease // *Clin. Exp. Immunol.* – 2008. – Vol. 153. – P. 96-101.
7. Mahler M., van Schaarenburg R.A., Trouw L.A. Anti-C1q autoantibodies, novel tests, and clinical consequences // *Front. Immunol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 1-5.
8. Oku K., Amengual O., Atsumi T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 42, № 10. – P. 1126-35.
9. Samarkos M., Mylona E., Kapsimali V. The role of complement in the antiphospholipid syndrome: a novel mechanism for pregnancy morbidity // *Semin. Arthritis Rheum.* – 2012. – Vol. 42. – P. 66-9.
10. Менжинская И.В. Распределение по подклассам IgG и патогенетическая активность аутоантител к хорионическому гонадотропину человека при нарушениях репродуктивной функции у женщин // *Акуш. и гинекол.* – 2011. – № 3. – С. 32-6.
11. Oku K., Nakamura H., Kono M. et al. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome // *Autoimmun Rev.* – 2016. – Vol. 15, № 10. – P. 1001-4.