

- A.A., Abaytova N.E., Lapkina N.A. et al. The automated analysis of anti-nuclear antibodies using technique of indirect reaction of immunofluorescence with application of HEP-2-cells. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 60 (3): 30–5. (in Russian)
15. Sohn K.Y., Khan W.I. ANA Testing. From Microscopy to Multiplexing. *Clinical Laboratory News*. 2014; 40 (6). Available at: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2014/june/ana-testing>.
16. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Measurement*. 1960; 20: 137–46.
17. Tozzoli R., Bizzaro N., Tonutti E., Villalta D., Bassetti D., Manoni F. et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 117 (2): 316–24.
18. Reveille J.D., Solomon D.H.; American College of Rheumatology Ad Hoc Committee of Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003; 49 (3): 399–412.
19. Satoh M., Tanaka S., Chan E.K. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmunehrheumatic diseases. *Front. Immunol.* 2015; 6: 181.
20. Showman O., Gilburd B., Zandman-Goddard G., Yehiely A., Langevitz P., Shoenfeld Y. Multiplexed AteNA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases. *Autoimmunity*. 2005; 38 (1): 105–9.
21. Moder K.G., Wener M.H., Weisman M.H., Ishimori M.L., Wallace D.J., Buckeridge D.L. et al. Measurement of antinuclear antibodies by multiplex immunoassay: a prospective, multicenter clinical evaluation. *J. Rheumatol.* 2007; 34 (5): 978–86.
22. Hanly J.G., Thompson K., McCurdy G., Fougere L., Theriault C., Wilton K. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol. Methods*. 2010; 352 (1–2): 147–52.
23. Bonilla E., Francis L., Allam F., Ogrinc M., Neupane H., Phillips P.E. et al. Immunofluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients. *Clin. Immunol.* 2007; 124 (1): 18–21.
24. Op De Beeck K., Vermeersch P., Verschuerec P., Westhoven R., Marien G., Blockmans D. et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. *Autoimmun. Rev.* 2012; 12 (2): 137–43.
25. Bruner B.F., Guthridge J.M., Lu R., Vidal G., Kelly J.A., Robertson J.M. et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (11): 3677–86.
26. Scholz J., Grossmann K., Knütter I., Hiemann R., Sowa M., Röber N. et al. Second generation analysis of antinuclear antibody (ANA) by combination of screening and confirmatory testing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53 (12): 1991–2002.

Поступила 13.07.16

Принята к печати 01.08.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-056.257-092:612.124.017.11-07

Драпкина О.М.¹, Шойбонов Б.Б.^{1,2}, Елиашевич С.О.¹

СПОСОБ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ C3-КОНВЕРТАЗЫ КЛАССИЧЕСКОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ КОМПЛЕМЕНТА

¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава РФ; 101990, Москва;

²ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», 125315, Москва

Разработан метод определения стабилизации C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в сыворотке крови человека. Метод включает в себя два этапа и основан на проведении реакции лизиса сенсibilизированных антителами эритроцитов барана 0,8% сывороткой крови человека. Предварительно проводят инкубацию двух проб (опытной и контрольной) в течение 10 мин, затем реакцию активации комплемента останавливают добавлением буфера, содержащего 10 мМ ЭДТА. В контрольной пробе определяют степень лизиса эритроцитов, а опытную пробу дополнительно инкубируют в течение 30 мин при 37°C, затем определяют степень лизиса. Активность C3-конвертазы рассчитывают как разность между степенью лизиса в опытной и контрольной пробах. При разнице более 10% расценивают как патологическое состояние, обусловленное стабилизацией C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента. Проведены исследования стабилизации C3-конвертазы классического пути активации комплемента у 31 пациента с абдоминальным ожирением. Показано, что у 87% больных с абдоминальным ожирением выявлена стабилизация C3-конвертазы.

К л ю ч е в ы е с л о в а: система комплемента; ЭДТА; стабилизация C3-конвертазы; C3a-desArg; абдоминальное ожирение.

Для цитирования: Драпкина О.М., Шойбонов Б.Б., Елиашевич С.О. Способ оценки функциональной активности C3-конвертазы классического пути активации комплемента. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (3): 177–181. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-177-181>

Drapkina O.M.¹, Shoibonov B.B.^{1,2}, Eliashevich S.O.¹

THE MODE OF EVALUATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF C3-CONVERTASE OF CLASSIC PATH OF ACTIVATION OF COMPLEMENT

¹The state research center of preventive medicine of Minzdrav of Russia, 101990 Moscow, Russia

²The P.K. Anokhin research institute of normal physiology, 125315 Moscow, Russia

Для корреспонденции: Шойбонов Батожаб Батожаргалович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения ФФГУ Научно-исследовательский центр профилактической медицины, e-mail: shoibonov@mail.ru

The technique of detection of stabilization of C3-convertase classical way of activation of system of complement in human blood serum. The technique comprises two stages and is based on applying a reaction of lysis of erythrocytes of sheep sensitized by antibodies using 0.8% human blood serum. Preliminary an incubation of two samples (experimental and control) is applied during 10 min. and then reaction of activation of complement is stopped by adding a buffer containing 10 mM of EDTA. In control sample degree of lysis of erythrocytes is established and experimental sample is additionally incubated during 30 min at 37°C and then degree of lysis is determined. The activity of C3-convertase is calculated as a difference between degree of lysis in experimental and control samples. The difference more than 10% is considered as a pathological state conditioned by stabilization of C3-convertase of classical way of activation of system of complement. The studies were carried out concerning stabilization of C3-convertase of classical way of activation of complement in 31 patients with abdominal obesity. It is demonstrated that in 87% of patients with abdominal obesity stabilization of C3-convertase was established.

Key words: *system of complement; EDTA; stabilization of C3-convertase; C3a-desArg; abdominal obesity.*

For citation: *Drapkina O.M., Shoibonov B.B., Eliashevich S.O. The mode of evaluation of functional activity of C3-convertase of classic path of activation of complement. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (3): 177-181. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-177-181>*

For correspondence: *Shoibonov B.B., candidate of chemical sciences, leading researcher of the department of fundamental and applied aspects of obesity. e-mail: shoibonov@mail.ru*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 05.08.2016
Accepted 20.08.2016

Введение. Система комплемента – составная часть врожденного иммунитета, которая участвует главным образом в антибактериальной защите, индукции и усилении гуморального иммунного ответа, солибилизации и элиминации иммунных комплексов [1]. Активация системы комплемента – один из эффекторных механизмов воспаления, филогенетически возникший ранее высокоспециализированного антительного ответа на антигены. Функционирование комплемента обеспечивается благодаря содружественному взаимодействию около 40 белков крови, которые обладают протеолитическими свойствами и активируются по каскадному принципу. Часть белков находятся в свободном состоянии в крови, другая часть оказываются мембраносвязанными [2].

Известны три пути активации системы комплемента: классический, альтернативный и лектиновый. Центральный ферментативный комплекс всех путей активации – C3-конвертаза. Перефразируя известную поговорку времен раннего Средневековья «все дороги ведут в Рим», можно сказать, что «все дороги ведут к C3». Ключевой момент любого из каскадов активации комплемента – расщепление C3 компонента на C3a и C3b, осуществляемое C3-конвертазой. Присоединение дополнительных молекул C3b к C3-конвертазе приводит к образованию C5-конвертаз, которые расщепляют C5 на C5a и C5b и запускают реакцию формирования мембраноатакующего комплекса (МАК) – гидрофобного «зонда», который, внедряясь в липидный бислой, приводит к разрыву клеточной мембраны и лизису клеток-мишеней [2, 3].

Классический путь является Ca²⁺/Mg²⁺-зависимым каскадом, который в норме запускают иммунные комплексы, активирующие C1, первый компонент комплемента, который содержит одну молекулу C1q и по две молекулы C1r и C1s. Активация C1 в результате связывания C1q-субкомпонента с Fc-фрагментом иммуноглобулинов иммунного комплекса и образования активных протеиназ C1r и C1s инициирует ферментативный каскад комплемента, приводящий к образованию C3-конвертазы классического пути (C4bC2a) [4, 5]. Период полураспада C4bC2a составляет в норме около 3–5 мин, и образовавшиеся в ходе реакции C3a и C3b имеют наряду с последующей каскадной активацией и формированием МАК свои провоспалительные, иммуномодулирующие и метаболические эффекты.

Ранее установлена роль C3, C4, C3a, C5a белков системы комплемента как предикторов риска больших сердечно-сосудистых событий (инфаркта, инсульта) [6]. Компоненты

комплемента широко изучают в качестве биомаркеров риска сердечно-сосудистых катастроф в проспективных клинических исследованиях. Так, показано, что высокий уровень C3 служит предиктором риска больших сердечно-сосудистых событий (фатальный/нефатальный инфаркт миокарда, инсульт) в когорте здоровых мужчин и женщин [7]. Среди пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС) после проведения аортокоронарного шунтирования, повышенный уровень C3 компонента был ассоциирован с риском смерти и ИМ у женщин [8]. В когорте здоровых мужчин уровень C4-компонента коррелировал с риском смерти и развитием ИМ [9]. Кроме этого, изучали взаимосвязь активированных C3-конвертазой компонентов системы комплемента. Так, C3a и C5a продемонстрировали свою предикторную ценность в выявлении лиц с субклиническим атеросклерозом [10]. В когорте пациентов с диагностированной ИБС повышение уровня C3a и C5a было ассоциировано с риском рестеноза стента с лекарственным покрытием [11]. У лиц с верифицированным атеросклерозом периферических артерий нижних конечностей C5a служил предиктором больших сердечно-сосудистых событий [12].

Большие перспективы открываются при изучении инактивированной формы C3a компонента. C3a служит мощным анафилатоксином, увеличивающим проницаемость кровеносных сосудов в очаге и способствующим миграции фагоцитирующих клеток и факторов гуморального иммунитета. Под действием карбоксипептидаз В и N происходит инаktivация C3a с образованием C3a-desArg – белка, стимулирующего ацилирование в реакции синтеза триглицеридов в печени и жировой ткани [13]. Белки комплемента по отдельности широко изучают, однако в этом контексте не было предпринято попыток по определению функциональной активности ключевого ферментного комплекса – C3-конвертазы. Для изучения функциональной активности C3-конвертазы мы спланировали и провели исследование.

Цель исследования – разработка метода определения стабилизации C3-конвертазы классического пути активации комплемента и оценка вклада функциональной активности C3-конвертазы в процессы развития комплементопосредованного ожирения.

Материал и методы. В работе использовали 5,5-дизилбарбитуровую кислоту (веронал) и ее натриевую соль (мединал), этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА)

фирмы Serva (ФРГ), остальные реактивы (квалификация не ниже ч. д. а.). Эритроциты барана, консервированные для реакции связывания комплемента, предоставлены ЗАО «ЭКО-лаб» (Электрогорск, Россия). Приготовление эритроцитов барана (ЭБ), эритроцитов барана, сенсibilизированных антителами кролика (ЭБ-А_к), изотонического вероналового буфера (VBS), буфера, содержащего ионы Ca²⁺ и Mg²⁺ (VBS²⁺) или ЭДТА (VBS-E), описано в работе [14].

Полученные данные были статистически обработаны с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2015 и надстройки Attestat for Excel 12.0.5. В зависимости от типа данных и с учетом характера распределения применяли критерии Стьюдента, Манна-Уитни. При проведении корреляционного анализа использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Данные в тексте представлены в виде средней арифметической и ее среднеквадратичного отклонения (M±SD) при параметрическом распределении. При распределении, отличном от нормального, данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (Q25–Q75)). Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Результаты. Определение оптимальной концентрации буфера для полного ингибирования активации системы комплемента. К 200 мкл суспензии эритроцитов барана (ЭБ) ($1,5 \cdot 10^8$ кл/мл) добавляли 40 мкл разведенной 1:9 пулированной сыворотки крови человека от 10 здоровых доноров и 20–100 мкл VBS-E (интервал концентрации 0,4–2,0 ммоль/л ЭДТА в системе), доводили объем до 500 мкл буфером VBS²⁺ и инкубировали 30 мин при 37°C. Одновременно проводили контроль на спонтанный (200 мкл ЭБ + 200 мкл VBS²⁺) и полный лизис ЭБ (200 мкл ЭБ + 200 мкл H₂O). После инкубации останавливали реакцию гемолиза добавлением 2,5 мл охлажденного 0,15 М раствора NaCl, центрифугировали 10 мин при 2000 об/мин и определяли степень гемолиза по величине A₄₀₅ супернатанта. Степень лизиса эритроцитов (У) рассчитывали по формуле:

$$Y(\%) = [(X-R)/(H-R)] \cdot 100,$$

где: H, R и X – величины оптической плотности A₄₀₅ супернатанта в гемолитических системах при полном лизисе, в контроле спонтанного лизиса ЭБ и в опытной пробе соответственно.

Степень ингибирования (СИ) определяли как разность показателей лизиса в контрольной пробе и в опытных пробах, содержащих возрастающие концентрации VBS-ЭДТА, по формуле:

$$СИ(\%) = (100 - Y),$$

где: 100 – степень лизиса в контрольной пробе, Y – степень лизиса в опытных пробах. Полученные данные приведены в табл. 1.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, лизис эритроцитов барана ингибируется дозозависимо при повышении концентрации ЭДТА в гемолитической системе. Таким образом, при концентрации ЭДТА в системе выше 1,4 ммоль/л наблюдают полное ингибирование гемолитической активности системы комплемента за счет хелатирования ионов кальция и магния.

Методика определения функциональной активности C3-конвертазы классического пути активации системы компле-

мента. Определение активности C3-конвертазы классического пути основано на том, что период полураспада C3-конвертазы составляет около 3–5 мин, и при добавлении буфера, содержащего ЭДТА, при связывании ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ полностью ингибируется активация комплемента по всем трем путям активации. Согласно разработанной нами методике 200 мкл эритроцитов барана ($1,5 \cdot 10^8$ кл/мл) инкубировали в течение 10 мин с 4 мкл сыворотки крови человека в конечном объеме 500 мкл, доведенном буфером VBS²⁺. Реакцию активации комплемента останавливали добавлением 100 мкл буфера VBS, содержащего 10 мМ ЭДТА. В контрольную пробу сразу добавляли 2,5 мл охлажденного раствора 0,15 М NaCl, центрифугировали и определяли степень лизиса. Опытную пробу инкубировали дополнительно в течение 30 мин при 37°C. После инкубации определяли степень лизиса. Активность C3-конвертазы определяли как разность между степенью лизиса в опытной и контрольной пробах. Референсным значением для степени стабилизации C3-конвертазы считали 10%.

Проведены результаты исследования функциональной активности C3-конвертазы в сыворотках крови 20 доноров. Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, в 5 сыворотках активность C3-конвертазы была больше 10% и в среднем составила $13,8 \pm 2,0\%$. В оставшихся 15 пробах среднее значение активности C3-конвертазы составило $3,8 \pm 1,9\%$. Активность C3-конвертазы на уровне $3,8 \pm 1,9\%$ согласуется с литературными данными. Повышенная почти в 4 раза активность C3-конвертазы в 5 сыворотках свидетельствует о стабилизации C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента.

Таблица 2

Активность C3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в сыворотках крови доноров

№ сыворотки	Опыт, процент лизиса	Контроль, процент лизиса	Активность C3-конвертазы, %
1	72	60	12
2	12	10	2
3	49	36	13
4	89	77	12
5	7	3	4
6	12	10	2
7	11	5	6
8	8	4	4
9	13	10	3
10	15	13	2
11	18	15	3
12	90	84	6
13	12	13	1
14	53	37	16
15	16	14	2
16	16	21	5
17	10	3	7
18	81	77	4
19	57	41	16
20	13	7	6
M±m			6,3±4,8

Таблица 1

Ингибирование лизиса эритроцитов барана 0,8% пулированной сывороткой крови человека буфером, содержащим 10 мМ ЭДТА

ЭДТА в гемсистеме, мМ	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,8	2,0	0
СИ, %	3	7	14	17	76	100	100	100	0

Таблица 3

Антропометрические данные, показатели углеводного и липидного обмена у пациентов (n = 31)

Показатель	M±m
Возраст, годы	43,7±8,8
Индекс массы тела, кг/м ²	29,7±5
Окружность талии, см	97,4±9
Общий холестерин, ммоль/л	5,5±0,9
Триглицериды, ммоль/л	2,4±0,5
Хс-ЛПНП, ммоль/л	3,8±0,9
Хс-ЛПВП, ммоль/л	1,0±0,3
Глюкоза, ммоль/л	5,0±1,2

Определение стабилизации С3-конвертазы классического пути активации комплемента в сыворотках крови лиц с абдоминальным ожирением. Обследован 31 пациент в возрасте 41±9 лет, 16 (52%) – женщины. Абдоминальное ожирение устанавливали согласно критериям Международной Федерации Диабета (IDF, 2009) по величине окружности талии (ОТ): ОТ ≥ 94 см у мужчин и ≥ 80 см у женщин. Наличие и степень ожирения выявляли с помощью критериев ВОЗ (2003) в соответствии с величиной индекса массы тела (ИМТ). Ожирение диагностировали при ИМТ ≥ 30 кг/м².

Всем пациентам определяли содержание в крови глюкозы натощак, общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (Хс-ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (Хс-ЛПНП), триглицеридов с использованием коммерческих наборов (Cotman, Польша).

Предлагаемым способом оценки функциональной активности С3-конвертазы были тестированы сыворотки крови 31 пациента с абдоминальным ожирением. Общая характеристика пациентов и показатели метаболического профиля представлены в табл. 3.

Среди пациентов с признаками абдоминального ожирения нормальный ИМТ выявлен у 7 (23%), избыточная масса тела – у 11 (35%), ожирение – у 13 (42%) человек. Степень функциональной активности (стабилизации) С3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в исследуемых группах представлены в табл. 4.

Таблица 4

Активность С3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в сыворотках крови пациентов с абдоминальным ожирением

№ пробы	Активность С3-конвертазы	№ пробы	Активность С3-конвертазы	№ пробы	Активность С3-конвертазы
1	15	11	32	21	4
2	8	12	16	22	7
3	15	13	16	23	22
4	35	14	19	24	14
5	24	15	24	25	23
6	24	16	30	26	13
7	26	17	23	27	9
8	22	18	12	28	13
9	18	19	22	29	24
10	18	20	27	30	11
				31	22

Мы видим, что только в 4 пробах сыворотки пациентов с АО выявлена нормальная активность С3-конвертазы классического пути активации комплемента. В остальных же пробах обнаружена повышенная активность С3-конвертазы. Обращала на себя внимание высокая степень стабилизации С3-конвертазы в общей выборке. У большинства пациентов (87%) функциональная активность С3-конвертазы превысила пороговые значения в 10%. Среднее значение активности С3-конвертазы среди всех участников составило 19±7,5%.

При проведении корреляционного анализа не найдено взаимосвязи между показателями функциональной активности С3-конвертазы и параметрами липидного спектра, уровнем гликемии, возрастом и полом ($p > 0.05$).

Обсуждение. Известно несколько способов определения активности С3-конвертазы классического пути активации системы комплемента [15–17]. Однако при использовании существующих методик производят оценку активности С3-конвертазы не прямым путем, а опосредованным. Так, разработана диагностика стабилизации С3-конвертазы по наличию у каждого конкретного больного аутоантител к С3-конвертазе, сформированной из очищенных компонентов комплемента [15, 17]. Методика для рутинных исследований не востребована ввиду длительного многоэтапного выполнения и потребности в очищенных компонентах системы комплемента.

Другой подход определения функциональной активности С3-конвертазы основан на гемолизе сенсibilизированных эритроцитов барана с использованием двух сывороток разных людей в качестве источников компонентов системы комплемента [16]. Комплекс С3-конвертазы, С4bС2a, формируется на эритроцитах барана, сенсibilизированных кроличьими антителами, с использованием компонентов С1, С4 и С2 из 1-й сыворотки. На следующем этапе проводится вторая реакция с участием компонентов С3-С9 из 2-й сыворотки в присутствии ЭДТА, приводящей к гемолизу эритроцитов. Недостаток этого способа – длительность, трудоемкость, недостаточная точность (поскольку используют две разные сыворотки).

Разработанный нами метод определения стабилизации С3-конвертазы классического пути активации системы комплемента в сыворотке крови человека основан на проведении реакции лизиса эритроцитов барана 0,8% сывороткой крови человека в два этапа. Показано, что только у 4 (13%) пациентов не выявлена стабилизация С3-конвертазы, в то время как у остальных 27 человек (87%) наблюдают стабилизацию С3-конвертазы. Методика может быть в дальнейшем модифицирована по двум направлениям: для определения аутоантител к С3-конвертазе и для выявления функционального дефицита регуляторов С3-конвертазы.

В нашей работе высокая активность С3-конвертазы свидетельствует о сниженном контроле функционирования ключевого фермента классического пути активации системы комплемента. Причиной выявленной стабилизации С3-конвертазы может быть как наличие аутоантител к С4b, так и дефицит регуляторов (например, фактор 1). Кроме этого, данный эффект стабилизации С3-конвертазы можно наблюдать при различных генетических мутациях ингибиторов С3-конвертазы [17].

Обнаруженный факт стабилизации С3-конвертазы, видимо, может служить прогностическим показателем липогенеза. Это предположение основывается на метаболических эффектах метаболита С3a–С3a-desArg, представляющего собой белок, стимулирующий ацилирование (ASP) и синтез триглицеридов клетками печени и адипоцитами [13, 18–20]. В последующем неконтролируемая активация и «потребление» компонента С3 через С3-конвертазу может приводить к

нарушению элиминации иммунных комплексов и развитию гломерулонефрита (obesity-related glomerulopathy) [21]. Взаимосвязь между адипогенезом и компонентами врожденного иммунитета требует дальнейшего изучения.

Способ определения функциональной активности С3-конвертазы позволяет выявлять скрытые нарушения регуляции иммунного ответа, которые могут быть как причиной ожирения, так и фактором, участвующим в патогенезе коморбидных патологий (дислипидемия, атеросклероз, гломерулонефрит).

Заключение. Таким образом, методика определения функциональной активности С3-конвертазы классического пути активации системы комплемента, описанная в данной работе, может служить альтернативным способом оценки активности системы комплемента. Поскольку для выполнения методики не нужны дополнительные затраты на очищенные компоненты комплемента, данный способ применим в рутинной лабораторно-клинической практике.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ricklin D., Lambris J. Complement in immune and inflammatory disorders: therapeutic interventions. *J. Immunol.* 2013; 190 (8): 3839–47.
2. Carroll M., Isenman D. Regulation of humoral immunity by complement. *Immunity.* 2012; 37 (2): 199–207.
3. Ricklin D., Reis E., Lambris J. Complement in disease: a defence system turning offensive. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016; 12 (7): 383–401.
4. Rittirsch D., Redl H., Huber-Lang M. Role of complement in multiorgan failure. *Clin. Dev. Immunol.* 2012; 2012: 962–927.
5. Szeplaki G., Varga L., Füst G., Prohaszka Z. Role of complement in the pathomechanism of atherosclerotic vascular diseases. *Mol. Immunol.* 2009; 46 (14): 2784–93.
6. Nilsson B., Hamad A., Ahlström H., Kullberg J., Johansson L., Lindhagen L. et al. C3 and C4 are strongly related to adipose tissue variables and cardiovascular risk factors. *Eur. J. Clin. Invest.* 2014; 44 (6): 587–96.
7. Muscari A., Bozzoli C., Puddu G., Sangiorgi Z., Dormi A., Rovinetti C. et al. Association of serum C3 levels with the risk of myocardial infarction. *Am. J. Med.* 1995; 98 (4): 357–64.
8. Szeplaki G., Prohaszka Z., Duba J., Rugonfalvi-Kiss S., Karádi I., Kókai M. et al. Association of high serum concentration of the third component of complement (C3) with pre-existing severe coronary artery disease and new vascular events in women. *Atherosclerosis.* 2004; 177 (2): 383–9.
9. Engstrom G., Hedblad B., Janzon L., Lindgarde F. Complement C3 and C4 in plasma and incidence of myocardial infarction and stroke: a population-based cohort study. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2007; 14 (3): 392–7.
10. Nagaraj N., Matthews K., Shields K.J., Barinas-Mitchell E., Budoff M.J., El Khoudary S.R. Complement proteins and arterial calcification in middle aged women: Cross-sectional effect of cardiovascular fat. The SWAN Cardiovascular Fat Ancillary Study. *Atherosclerosis.* 2015; 243 (2): 533–9.
11. Speidl W., Katsaros K., Kastl S., Zorn G., Huber K., Maurer G. et al. Coronary late lumen loss of drug eluting stents is associated with increased serum levels of the complement components C3a and C5a. *Atherosclerosis.* 2009; 208 (1): 285–9.
12. Speidl W., Exner M., Amighi J., Mlekusch W., Sabeti S., Kastl S.P. et al. Complement component C5a predicts restenosis after superficial femoral artery balloon angioplasty. *J. Endovasc. Ther.* 2007; 14 (1): 62–9.
13. Cianflone K., Xia Z., Chen L. Critical review of acylation-stimulating protein physiology in humans and rodents. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1609 (2): 127–43.
14. Shoibonov B.B., Osipov A.V., Kryukova E.V., Zinchenko A.A., Lakhtin V.M., Tsetlin V.I. et al. Oxiagin from the *Naja oxiana* cobra venom is the first reprotolysin inhibiting the classical pathway of complement. *Mol. Immunol.* 2005; 42 (10): 1141–53.
15. Miller E.C., Chase N.M., Densen P., et al. Autoantibody stabilization of the classical pathway C3 convertase leading to C3 deficiency and Neisserial sepsis: C4 nephritic factor revisited. *Clin. Immunol.* 2012; 145 (3): 241–50.
16. Kobayashi E., Kitano E., Kitamura H. A novel assay for serum complement activity: C42 generation assay. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1999; 120 (1): 71–7.
17. Blom M., Corvillo F., Magda M., Stasiłojć G., Nozal P., Pérez-Valdivia M.A. et al. Testing the Activity of Complement Convertases in Serum/Plasma for Diagnosis of C4NeF-Mediated C3 Glomerulonephritis. *J. Clin. Immunol.* 2016; 36 (5): 517–27.
18. Gupta A., Rezvani R., Lapointe M., Poursharifi P., Marceau P., Tiwari S. et al. Downregulation of complement C3 and C3aR expression in subcutaneous adipose tissue in obese women. *PLoS One.* 2014; 9 (4): e95478.
19. Liu Z., Tang Q., Wen J., Tang Y., Huang D., Huang Y. et al. Elevated serum complement factors 3 and 4 are strong inflammatory markers of the metabolic syndrome development: a longitudinal cohort study. *Sci. Rep.* 2016; 6: 18 713.
20. Saleh J., Wahab R.A., Farhan H., Al Amri I., Cianflone K. Plasma Levels of Acylation-Stimulating Protein Are Strongly Predicted by Waist/Hip Ratio and Correlate with Decreased LDL Size in Men. *ISRN Obes.* 2013; 2013: 342–802.
21. de Vries A.P., Ruggenti P., Ruan X.Z., Praga M., Cruzado J.M., Bajema I.M. et al. Fatty kidney: emerging role of ectopic lipid in obesity-related renal disease. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; 2 (5): 417–26.

Поступила 05.08.16
Принята к печати 20.08.16