

Дарашкевич Л. О.
**ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ
ДОБАВЛЕНИИ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО АНТИГЕНА IN VITRO**

*Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Черношей Д. А.
асп. Бурдаков В. С.*

*Кафедра Микробиологии, вирусологии, иммунологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск,
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-
Петербург.*

Актуальность. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) крови являются сложной и регулируемой организмом системой. В изученной нами литературе не известны данные по их возможным изменениям при различных медицинских вмешательствах.

Цель: исследовать in vitro физико-химические изменения ЦИК сыворотки крови при добавлении стандартного, высокоочищенного туберкулезного антигена у здоровых доноров и больных туберкулезом в стадии ремиссии.

Материалы и методы. Использовали сыворотки 2-х здоровых доноров с невыявленными инфекционными заболеваниями и 3-х больных туберкулезом в стадии ремиссии. Пробы на Диаскинтест у доноров перед забором крови были отрицательными, а у всех больных - положительными. Сыворотки перед исследованием центрифугировали 20 мин. при 14000g. К аликвотам по 5 мкл сывороток в качестве антигена добавляли по 1 мкл р-ра стандартного Диаскинтеста, который представляет собой рекомбинантный белок CFP10-ESAT6 в концентрации 2 мкг/мл. Таким образом, на 500 нг белка пробы сыворотки доза антигена составила 2 нг белка. Анализ ЦИК проводили путем разделения методом электрофореза в градиентном полиакриламидном геле (ПААГ) 4-10% рН 8,3 без добавления денатурирующих агентов (нативный электрофорез) с последующим переносом комплексов на PVDF мембрану методом электроблоттинга. Мембрану, после блокировки 5% обезжиренным молоком, обрабатывали мышинными моноклональными антителами к человеческим иммуноглобулинам Е (IgE). После отмывки мембрану обрабатывали козьими конъюгированными с пероксидазой поликлональными антителами к мышинным иммуноглобулинам. Регистрацию разделенных ЦИК проводили при совместной инкубации мембраны с рентгеновской пленкой в темноте в течение 30 мин. в люминол-пероксидной смеси. После проявления пленки результаты регистрировали на сканере. С помощью компьютерной программы Adobe Photoshop CS6 осуществляли компоновку треков и с помощью программ ImageJ и Microsoft Excel осуществляли их полуколичественную обработку.

Результаты и их обсуждение. При добавлении антигена в образцы исследованных сывороток обнаружили изменение распределения по электрофоретической подвижности фракций ЦИК, содержащих IgE. При этом характер изменений подвижности в пробах пациентов с туберкулезом был однотипным. Он проявлялся в исчезновении наиболее подвижной фракции ЦИК.

Выводы. Полученные предварительные данные впервые показывают существенные физико-химические сдвиги в ЦИК при добавлении незначительных доз антигена, что может быть перспективным для лабораторной диагностики туберкулеза и других заболеваний.