

анемії відмічалось зниження концентрації білка (рис. 3), яке не супроводжувалося змінами спектральних характеристик його забарвлення. Аналогічно не відмічалось змін спектральних характеристик забарвлення білка плодкових та материнських еритроцитів.

Як видно з табличних даних, загальний вміст білка у плодкових еритроцитах мало змінювався при наростанні ступеня анемії. Враховуючи відомий факт тісної залежності стану плодкових еритроцитів від стану тканини плаценти, що наявне у людей [3], слід спробувати пояснити, чому у щурів не вдалося в даному експерименті досягти патологічного стану еритроцитів у плодів. Можливо, що це пов'язано з особливостями кровообігу в плаценті щурів порівняно з плацентою людини. Зокрема, на відміну від людини, у якої потоки материнської та плодової крові описуються як багатоворсинкові [9] і тому є значною мірою хаотичними, у щура, як типового представника гризунів, спостерігається протипотоковий механізм руху кров'яних потоків, що є найбільш ефективним серед відомих у тваринницькому світі. Така властивість кровотоку в плаценті щура дозволяє йому мати порівняно невелику плаценту — 1:10 по відношенню до маси плода (у людини це співвідношення становить 1:6) [9].

Висновки

1. Комп'ютерно-денситометричні та спектральні параметри білкового компонента структурних елементів плаценти є чутливими показниками метаболічної патології плаценти при експериментальній анемії вагітних.

2. Для оцінки стану білкового компонента трофобласта лабіринту плаценти щурів більш ефективним є спектральний аналіз порівняно з оцінкою загального вмісту білка комп'ютерно-денситометричним методом.

Обґрунтовано перспективність подальших розробок щодо застосування комп'ютерної денситометрії для оцінки метаболічної недостатності плаценти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Давиденко І. С. Напівавтома-тичний кількісний комп'ютерний аналіз мікроскопічного зображення в гістопатології // Бук. мед. вісник. — 2000. — Т. 4, № 2. — С. 165-169.

2. Давиденко І. С. Комп'ютерно-денситометричні параметри білкового компонента міжворсинкового фібриноїду плаценти та їх залежність від еритроцитарних показників материнської крові // Там же. — Т. 4, № 4. — С. 134-139.

3. Евсеєнко Д. А., Цирельников Н. И. Роль плаценти в регуляції фетального зритропоеза // Бюл. експерим. биол. и мед. — 2001. — Т. 132, № 11. — С. 519-521.

4. Запорожан В. М., Даниленко А. І., Макулькін Р. Ф. Плацентарна недостатність і її вплив на плід // Одес. мед. журнал. — 1999. — № 4. — С. 82-84.

5. Кравченко О. В., Приходько С. Д. Передчасні пологи як група ризику ускладнень в третьому та післяпологовому періодах // Вісн. наук. досліджень. — 2000. — № 1. — С. 67-68.

6. Милованов А. П. Патология системы мать—плацента—плод: Рук. для врачей. — М.: Медицина, 1999. — 448 с.

7. Міхєєв А. О., Магальяс В. М., Щербініна А. В. Лабораторні щури. — Чернівці: Рута, 2002. — 66 с.

8. Сенчук А. Я., Задорожная Т. Д., Константинов К. К. Морфофункциональные и ультраструктурные изменения в плаценте при железодефицитной анемии беременных // Вісн. асоц. акуш.-гінек. України. — 1999. — № 4. — С. 25-30.

9. Benirschke K., Kaufmann P. Pathology of the Human Placenta. — 3rd ed. — N.Y.: Springer-Verlag, 1995. — 871 p.

10. Berger J. Age-related sensitivity of rats to induction of anaemia // Folia Haematol. — 1987. — Vol. 114. — P. 408-413.

11. Kudo A., Hirano H. The practical side of image processing with the use of a personal computer: Automation of the analyzing processes employing NIH image and Adobe Photoshop^R with power Macintosh computer // Acta histochem. et cytochem. — 1999. — Vol. 32, N 3. — P. 229-233.

12. Activity and protein localization of multiple glutamate transporters in gestation day 14 vs day 20 rat placenta / J. Matthews, M. J. Beveridge, M. S. Malandro, J. D. Rothstein // Amer. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274, N 3, Pt. 1. — P. 603-613.

13. Rizzuto R., Carrington W., Tuft R. A. Digital imaging microscopy of living cells // Trends Cell Biol. — 1998. — Vol. 8, N 7. — P. 288-292.

14. Vascular endothelial growth factor expression in the rat uterus and placenta throughout pregnancy / A. Watanabe, T. Yasumizu, K. Hoshi et al. // Acta histochem. et cytochem. — 1998. — Vol. 31, N 5. — P. 419-426.

УДК 579.61:616-078:579.873.21

П. З. Протченко, О. А. Грузевський, О. В. Філіповський

ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДОСПЕЦИФІЧНОСТІ АНТИГЕНІВ, ЩО МІСТЯТЬСЯ В ЕКСТРАКТАХ ПОВЕРХНЕВИХ КОМПОНЕНТІВ M. AVIUM

Одеський державний медичний університет

Вельми широке розповсюдження туберкульозу відзначається в усьому світі, в Україні він набув характеру епі-

демії [1; 3]. Важливу роль у такому загостренні епідемічної ситуації відіграють атипичні мікобактерії. Значення цих

мікроорганізмів зростає, тим більше що вони є збудниками опортуністичних інфекцій при СНІДі й інших імунодефіцит-



них станах [5; 7]. В етіології мікобактеріозів особливе місце посідають *M. avium* у зв'язку з широким розповсюдженням у природі, особливо серед синантропних тварин і птахів [5].

Проблема диференційної діагностики туберкульозу й мікобактеріозів (а також мікобактеріозів, спричинених різними видами атипичних мікобактерій) не є докорінно вирішеною. Тим же часом етіологічна діагностика має велике клінічне й епідеміологічне значення, оскільки підходить до лікування та профілактики захворювань, що їх спричинено різними видами мікобактерії, можуть суттєво відрізнятися [6].

Упродовж останніх років у визначенні виду збудників мікобактеріозів деякі надії покладають на серологічні методи дослідження. Це пов'язано з відносною простотою та доступністю таких методів для практичних лабораторій, а також з їх невеликою вартістю і, водночас, високою ефективністю [8]. Однак упровадження серологічних досліджень потребує виявлення та виділення високоспецифічних компонентів мікобактерій, які були б придатні для конструювання ефективних тест-систем, що й визначило напрямок наших досліджень.

У попередніх роботах нами було встановлено, що екстракти поверхневих компонентів деяких атипичних мікобактерій містять речовини, активні у антигенному відношенні, але нам не вдалося виявити серед них відоспецифічні [2].

Мета дослідження — пошук відоспецифічних антигенних поверхневих компонентів *M. avium* із застосуванням методу перехресного імуоелектрофорезу, який має велику роздільну здатність.

Матеріали та методи дослідження

Екстракт поверхневих компонентів *M. avium*, одержаний раніше наведеним методом,

піддавали електрофоретичному фракціонуванню в 1%-му агарозному гелі [2]. Після електрофорезу агарозний гель з розділеним екстрактом переносили на скло такої ж довжини, але завширшки удвічі більше. Далі по обидва боки гелю, паралельно до осі руху молекул, що мігрували, формували дві зони. Перша зона розташовувалася впритул до агарозного гелю з розділеними антигенами й містила імунову сироватку проти одного з досліджуваних видів мікобактерій (*M. bovis*, *M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. phlei*). Сироватку вводили до розчину агарози за температури 45–50 °С, щоб її вміст досяг 10 % (об'ємних).

Друга зона була сформована лише агарозою і не містила інших компонентів. Повторний електрофорез проводили таким чином, щоб антигени мігрували у напрямку гелю, який містив антитіла, тобто перпендикулярно вихідному напрямку. При міграції антигенів до зони гелю, що містила гомологічні антитіла, спостерігалося зв'язування, що візуально реєструвалося у вигляді «ракетоподібних» преципітатів. Таким чином, вдавалося досягти зв'язування перехресно реагуючих антигенів. Антигени, які не зв'язалися, мігрували далі — до другої зони агарози, яка не містила сироватки. Потім у гелі прорізували канавки перпендикулярно до напрямку міграції антигенів при повторному електрофорезі й заповнювали їх сироваткою проти *M. avium*.

Електрофореграми витримували при 37 °С упродовж 24–72 год, після чого реєстрували результати. Антигени, антитіла до яких були відсутні у першій зоні, виявлялися у вигляді преципітаційних дуг біля траншеї з антисироваткою.

Результати дослідження та їх обговорення

Одержано результати розділення суцільного екстракту *M. avium* (рис. 1).

При двомірному імуоелектрофорезі екстракт *M. avium* розділяється на 5 компонентів, причому всі ці компоненти ефективно затримуються й формують лінії преципітації в зоні гелю з сироваткою проти *M. avium*. При цьому два «максимуми» відповідали «катодним» компонентам, а три — «анодним». «Анодні» антигени, відповідно до зростання їх електрофоретичної рухомості, позначили як α_1 , α_2 , α_3 . У траншеях із сироваткою проти *M. avium* преципітатів не відзначалося.

Із нормальною кролячою сироваткою, навпаки, спостерігалося утворення преципітатів біля траншей з сироваткою проти *M. avium*.

Специфічні антигенні компоненти в екстракті поверхневих компонентів *M. avium* виявляли шляхом проведення перехресного електрофорезу з використанням як «фільтруючих» сироваток проти інших видів мікобактерій. Для цього спочатку проводили розділення екстракту *M. avium*, потім антигенні компоненти екстракту мігрували через зону гелю, що містила у кожному випадку антисироватку до одного з видів мікобактерій: *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*. Як «проявлювальну» використовували сироватку проти *M. avium*, яку вносили до траншей після закінчення електрофоретичного розділення в обох напрямках.

Результати одного з дослідів перехресного імуоелектрофорезу екстракту *M. avium* з використанням сироватки проти *M. phlei* як «фільтруючої» свідчать, що «анодні» компоненти α_1 й α_3 вступили у взаємодію з сироваткою проти *M. phlei*, що знаходилася у 2-й зоні гелю (рис. 2). Компонент же α_2 у таку взаємодію не вступав. Що стосується «катодних» компонентів суцільного екстракту *M. avium*, то можна перекоонатися, що вони також не вступали у взаємодію з сироваткою проти *M. phlei*. Од-



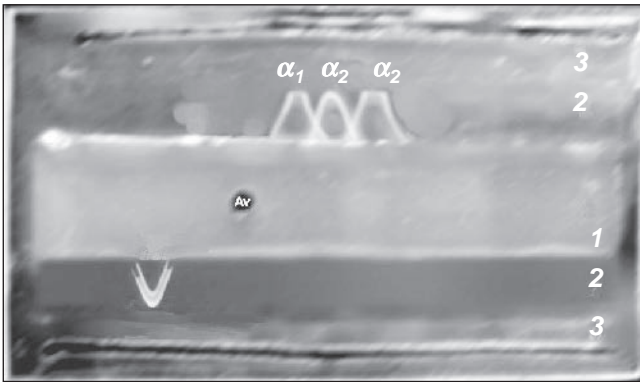


Рис. 1. Перехресний імуоелектрофорез екстракту *M. avium*: Av — екстракт *M. avium*; 1 — зона гелю, де проводилося вихідне розділення суцільного екстракту *M. avium*; 2 — зона гелю, яка містила сироватку проти *M. avium*; 3 — зона гелю, де проводили «проявлення» антигенів, що не зв'язалися у 2-й зоні

нак подібні експерименти з використанням як «фільтруючих» сироваток проти *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum* доводять, що як «катодні» компоненти, так і компоненти α_1 та α_3 вступають у взаємодію з переліченими сироватками. Тільки компонент α_2 у подібну взаємодію не вступає з жодною з досліджених сироваток.

Таким чином, внаслідок проведених досліджень можна було припустити, що жоден з виявлених у *M. avium* «катодних» антигенів не можна вважати видоспецифічним, оскільки обидва реагують із сироватками проти різних видів мікобактерій. Можна також припустити, що за антигенними властивостями «катодні» компоненти були груповими антигенами мікобактерій.

«Анодні» компоненти α_1 й α_3 екстракту *M. avium* вступали у перехресні реакції з сироватками проти досліджуваних видів мікобактерій, виключаючи *M. kansasii* та *M. bovis*. Тільки компонент α_2 не вступав у взаємодію з жодною з досліджених сироваток до різних видів мікобактерій, тому саме його можна вважати видоспецифічним для *M. avium*. Одержані результати деякою мірою збігаються з даними літератури. Зокрема, M. Harboe й співавтори у водних екстрактах поверхневих антигенів вияви-

ли за допомогою перехресного імуоелектрофорезу у *M. avium* — 9, *M. kansasii* — 5, у *M. fortuitum* — 5 компонентів, активних в антигенному відношенні. При цьому більшість з цих антигенів давали перехресні реакції, тобто були груповими, тимчасом як про наявність видоспецифічних антигенів автори даних не наводять [4].

Висновки

1. Серед трьох «анодних» компонентів *M. avium* лише компонент α_2 не вступає у серологічні реакції з жодною із сироваток проти досліджуваних видів мікобактерій, крім одноіменної. Це дає підстави припустити, що саме цей компонент може бути видоспецифічним для *M. avium*.

2. За результатами перехресного імуоелектрофорезу «катодні» компоненти екстракту *M. avium* можуть вважатися груповими, оскільки вступають у взаємодію з сироватками проти інших видів мікобактерій.

Результати, що їх було отримано, стануть у пригоді при створенні діагностичної тест-системи для ефективної, економічно необтяжливої та доступної діагностики мікобактеріозів. Це, у свою чергу, сприятиме покращанню ситуації з розповсюдженням туберкульозу, допоможе при його діагностиці, а відтак і лікуванні.

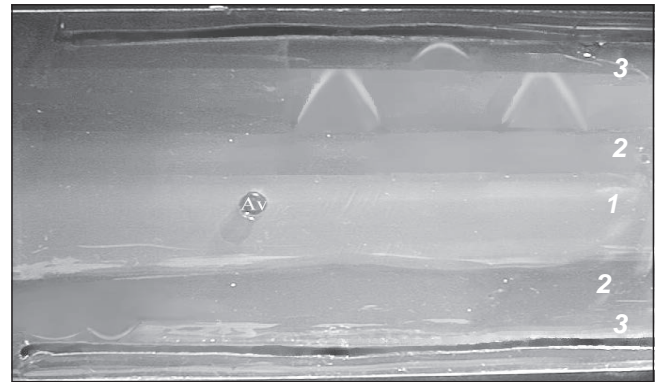


Рис. 2. Перехресний імуоелектрофорез суцільного екстракту *M. avium* з участю антисироватки до *M. phlei*: Av — суцільний екстракт *M. avium*; 1 — зона гелю, де проводилося початкове розділення суцільного екстракту *M. avium*; 2 — зона гелю, що містить антисироватку до *M. phlei*; 3 — зона гелю, де проводили «проявлення» антигенів, що не зв'язалися у 2-й зоні

ЛІТЕРАТУРА

1. Мельник В. М. Проблеми епідеміології та профілактики туберкульозу // Мед. вісті. — 1997. — № 1. — С. 10-13.
2. Изучение протеинового состава и антигенных свойств некоторых видов микобактерий / П. З. Протченко, А. А. Грузевский, А. В. Филиповский, Л. В. Александрова // Эксперим. и клин. медицина. — 1999. — № 2. — С. 78-80.
3. Плужник Б. М. Проблема химио-резистентного туберкулеза и возможности ее решения // Пробл. туберкулеза. — 1999. — № 6. — С. 17-20.
4. Cross-reactions between mycobacteria. II. Crossed immunoelectrophoretic analysis of soluble antigens of BCG and comparison with other mycobacteria / M. Harboe, R. M. Mashana, O. Closs et al. // Scand. J. Immunol. — 1979. — Vol. 9, N 2. — P. 115-124.
5. Horsburg C. R. Mycobacterium avium complex infection in the acquired immunodeficiency syndrome // N. Eng. J. Med. — 1991. — Vol. 324, N 19. — P. 1332-1338.
6. Ho I. I., Chan C. Y., Cheng A. F. Aminoglycoside resistance in Mycobacterium kansasii, Mycobacterium avium — M. intracellulare, and Mycobacterium fortuitum: are aminoglycoside-modifying enzymes responsible? // Antimicrob. Agents Chemoter. — 2000. — Vol. 44, N 1. — P. 39-42.
7. Sakatani M. Epidemiology of non-tuberculous mycobacteriosis (NTM) // Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi. — 1994. — Vol. 32. — P. 211-215.
8. Enzyme immunoassay for identification of heat-killed mycobacteria belonging to the Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium complexes and derived from early cultures / R. Schoningh, C. P. Verstijnen, S. Kuijper, A. H. Kolk // J. Clin. Microbiol. — 1990. — Vol. 28, N 4. — P. 708-713.

