

УДК 615.322+547.963.61.001.6

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин

ВИЗУАЛЬНЫЕ ПАТТЕРНЫ СУБИЗОТИПОВ C4A И C4B КОМПОНЕНТА C4 СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ЧЕЛОВЕКА В ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ И ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Приведены результаты исследования визуальных паттернов субизотипов компонента C4 системы комплемента сывороток, разделенных изоэлектрофокусированием в полиакриламидном геле и электрооблотированных на мембрану. Описан оригинальный метод имэдж-контролируемого десалирования сывороток с использованием изотипов C4A и C4B в качестве маркеров. Предложен алгоритм субизотипирования C4 сывороток пациентов. Результаты открывают новые перспективы в диагностике аутоиммунных и инфекционных болезней.

Ключевые слова: система комплемента, изотипы C4A и C4B, десалирование сыворотки, аутоиммунные и инфекционные болезни, диагностика

VISUAL PATTERNS OF C4A AND C4B SUBISOTYPES OF C4 COMPONENT OF HUMAN COMPLEMENT SYSTEM IN THE DIAGNOSTICS OF AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS DISEASES

M.V. Lakhtin, V.M. Lakhtin, S.S. Afanasiev, V.A. Aleshkin

G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Results on visual patterns of subisotypes of patient sera complement component C4 complexes separated by isoelectric focusing in polyacrylamide gel and electroblotting are presented. Method of visual controlled desialylation of sera using isotypes C4A and C4B as internal biomarkers is described. Method was applied to investigation C4 isotyping and subisotyping patient sera. Sera of patients were classified into groups differing in subisotyping. The number of established groups of system component C4 was higher compared to groups detecting by other methods (for example, detecting using microplate functional assay of isotypes C4A and C4B). Results open new prospects in diagnostics of autoimmune and infectious diseases using detection of pathological blood biomarkers complexed to C4 isotypes.

Key words: complement system, isotypes C4A and C4B, desialylation of serum, autoimmune and infectious diseases, diagnostics

Исследования диагностических биомаркеров сыворотки являются актуальными. Особый интерес представляют работы по визуальной имэджевой детекции биомаркеров в кинетическом режиме (режиме живого изображения). Система комплемента человека (СКЧ) является коммуникатором иммунитета, находится в состоянии непрерывного кофункционирования с другими реагирующими на инфекцию системами организма [1, 3, 5], поэтому компоненты СКЧ представляют первостепенный интерес в исследовании диагностических продуктов реакций организма на инфекцию и развивающиеся патологические процессы. В этом отношении перспективны работы по функциональному и визуальному изотипированию сывороток пациентов, например, в отношении изотипов компонента C4 СКЧ [2, 4, 6].

Новизна и значимость получаемых результатов обусловлены не только высокой чувствительностью приборов и их способностью к одновременному мониторингу ряда параметров, но и разработкой новых и усовершенствованием традиционных доступных

в лаборатории методов и методологий [6]. Изотипы C4A и C4B компонента C4 СКЧ способны в условиях болезни активироваться (высвободить в результате ограниченного протеолиза фрагменты C4Ab и C4Bb с сохранением способности взаимодействовать с антителами (АТ) к C4) с экспонированием реакционно активных связей. Активированные фрагменты ковалентно связывают (проявляется функциональная активность изотипов) близко локализованные гликоконъюгатные (ГК)-мишени: белковую часть ГК (в случае C4Ab) или углеводную часть, в том числе углеводные антигены микроорганизмов (в случае C4Bb). При этом в крови пациента образуется система множественных форм – не только изотипных, но и субизотипных паттернов диагностического значения, определяемых как наследственно обусловленной степенью дефицитности изотипа (полной или частичной), так и набором ковалентно связанных с изотипами мишеней, характеризующих особенности болезни пациента. **Целью** работы было представить результаты по субизотипированию системного компонента C4 СКЧ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали сыворотки пациентов с аутоиммунными и инфекционными болезнями. Десалированные сыворотки разделяли изоэлектрофокусированием (ИЭФ) в пластине полиакриламидного геля (ПААГ) в кислом градиенте pH (3–5 или 2–6) без мочевины и сахарозы, электрооблотивали на мембранный сэндвич: гидрофильную мембрану *Durapore* (Millipore) и гидрофобную мембрану *Immobilon P* (Millipore). Распределение на блоте множественных иммуноактивных форм С4, ассоциированных с мишенями, проявляли иммунохимически с использованием поликлональных кроличьих антител к С4, меченных пероксидазой хрена, которую проявляли в присутствии хемилуминесцентного субстрата. Кинетику хемилуминесценции (Хл) полученного набора кинетических паттернов на блоте регистрировали в темной камере (*Epi Chemi Dark Room*) системы *BioChemi System* (UVP, Calif., США) с использованием светофильтра *Bromide Ethidium*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Десалирование гликопротеинов (ГП) на примере изотипов С4А и С4В. Этот начальный этап является ключевым в мультиступенчатом исследовании системного С4, а также для разработки методологий и методов исследования крови и салированных ГК. Решаемые задачи: повышение воспроизводимости метода десалирования, снижение электрофоретической салиомикрогетерогенности ГП и их комплексов, повышение надежности конечных результатов, визуальный контроль десалирования для оптимизации физико-химических факторов реакции для выбранного препарата салидазы.

Принцип метода десалирования ГК. Структуры углеводной части изотипов С4А и С4В человека из-

вестны – они типичны для ГП «сывороточного» типа и включают преимущественно выраженные салированные Asn-гликаны комплексного типа, противопоставленные Ser/Thr-гликанам «муцинового» типа. Салидаза бацилл *Clostridium perfringens* (Grade V или VI, *Sigma*, США) десалирует ГП крови. Разделенные посредством ИЭФ-ПААГ десалированные изотипы С4А (в меньшей степени отрицательно заряженный) и С4В (в большей степени отрицательно заряженный) располагаются в области pH 5–6 в виде слабо выраженных минимальных наборов множественных форм. В условиях болезни образуются множественные комплексы функционально активных изотипов С4А и С4В и характерных для болезни ГК-мишеней, причем образующиеся комплексы более выражены и более дискретны (по сравнению с pH 5–6) выявляются в более кислой области (pI 4–5). Использование для оптимизации реакции десалирования «модельных» сывороток пациентов (с известными дефицитами одного из изотипов) приводит к получению ожидаемых (по типу известного дефицита сыворотки) визуальных паттернов Хл на блоте с хорошо воспроизводимым для разных сывороток пациентов расположением изотипов С4А (pI 4.0–4.3) и С4В (pI 4.58–4.65) на блоте – pH 7 [4].

Описание метода десалирования сывороток.

Образцы сывороток крови (не брали гемолизированные сыворотки, содержащие внутриклеточную каталазу, разрушающую перекись водорода – активатор пероксидазы) десалировали при pH 7 вначале при 56 °С в течение 30 мин (совпадение со временем термоденатурационной инактивации СКЧ; повышается доступность салидазе гликанов на фоне возрастания устойчивости комплексов к протеолизу; улучшаются антигенные свойства комплексов

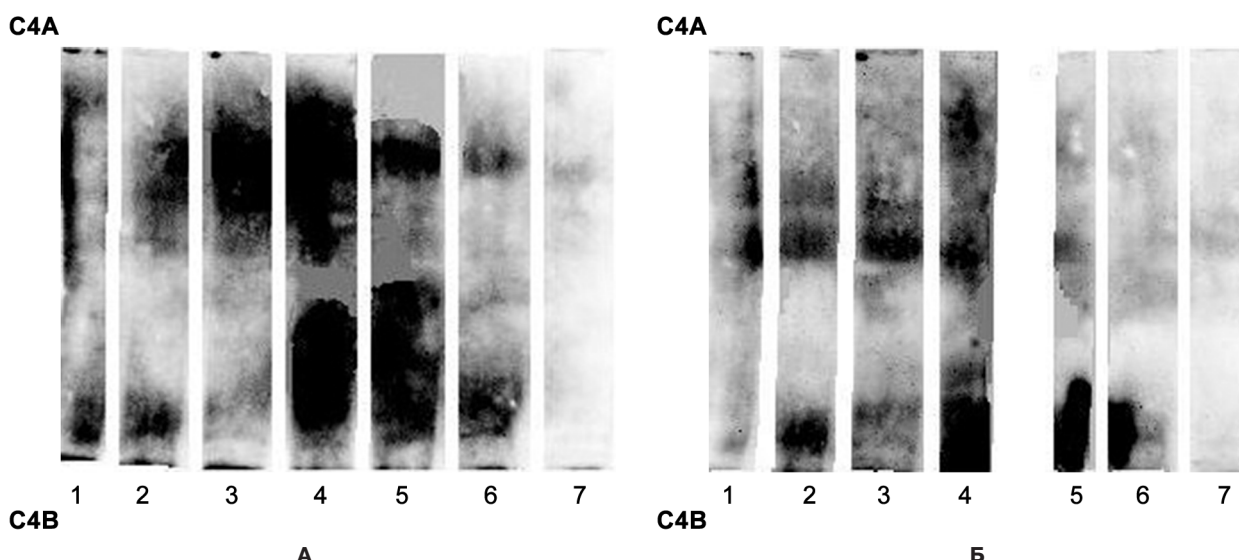


Рис. 1. Условия десалирования сывороток с дефицитом С4В (сыворотка 408, треки 1–3) или С4А (сыворотка С-1, треки 4–7) до или после pH 4-обработки блота (**А** и **Б** соответственно): 1 и 4 – без салидазы; 1, 2, 4, 5 и 7 – инкубация при комнатной температуре, ночь; 3 и 6 – инкубация при 56 °С 30 мин; 7 – инактивация комплемента разбавлением водой в 10 раз. Видно, что условия в треках 3 и 6 (обработка салидазой после термоинактивации комплемента и дальнейшей инкубации при комнатной температуре в течение ночи) лучше всего соответствуют дефициту одного из изотипов в модельной сыворотке с дефицитом и устойчивы при нейтральных и слабокислых pH-обработках блота; условия в треках 2 и 5 (обработка салидазой при комнатной температуре в течение ночи) могут быть использованы для установления дефицита С4В (трек 2 до pH 4-обработки) или дефицита С4В (трек 5 после pH 4-обработки).

с экспонированным С4). Инкубацию продолжали в течение ночи при комнатной температуре в темноте (есть основания полагать, что при термоинкубации в течение 40 мин дополнительная инкубация может не использоваться). Стабилизатором сиалидазы служил присутствующий в сыворотке альбумин (примерно 40 мг/мл; достаточно 10 мг/мл). К 7–8 мкл сыворотки добавляли 2–4 мкл термостабильной (при 50–55 °С) нейраминидазы из *Clostridium perfringens* (5 мг белка в 50 мМ К-фосфатном буфере pH 7 с 5 мМ Na₂-ЭДТА)

с 5 мкл ингибиторов протеиназ *Complete* (1 таблетку ингибиторов растворяли в 1 мл стерильного физраствора).

Контроль десиалирования сыворотки проводили с помощью ИЭФ-ПААГ с последующим электро-блотированием на мембрану. Изоотипы проявляли конъюгатом (АТ к С4)-пероксидаза. Увеличение дозы сиалидазы вдвое приводило к появлению дополнительных интермедиатных продуктов между положениями С4А и С4В на блоте, усложняющих анализ

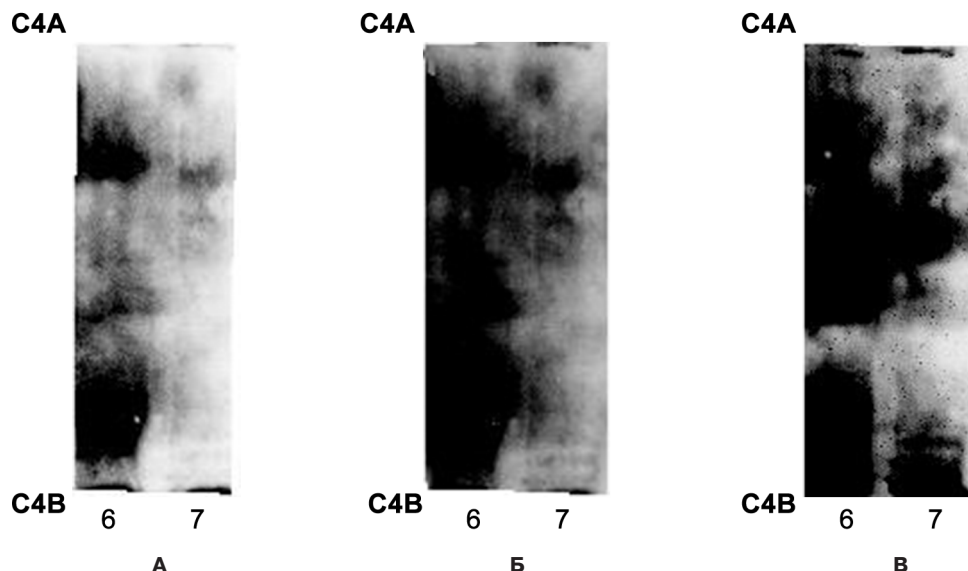


Рис. 2. Сравнение способов инактивации СКЧ (на примере сыворотки С-1 с дефицитом С4А – фрагмент «6+7» предыдущего рисунка): 6 – инаktivация прогревом 30 мин при 56 °С; 7 – инаktivация разбавлением в 10 раз водой (нанесение в 10 раз меньше сыворотки, чем в треке 6). С4А и С4В – верхние или нижние мажорные полосы соответственно. На фотографиях **А**, **Б** (блоты до pH 4-обработки; различаются контрастом) видно отсутствие С4В (его маскирование и/или частичное вымывание – фото **Б**) на фоне сохранения С4А. На фотографии **В** (блот после pH 4-обработки; картина с усиленным контрастом) видно улучшение дискретности полос С4А и проявление остаточного С4В в виде полос. Усиление контраста – для улучшения качественного визуального анализа изоотипов С4, не отражает точного количественного соотношения С4А/С4В (сканирование Хл проводится до редактирования картин).

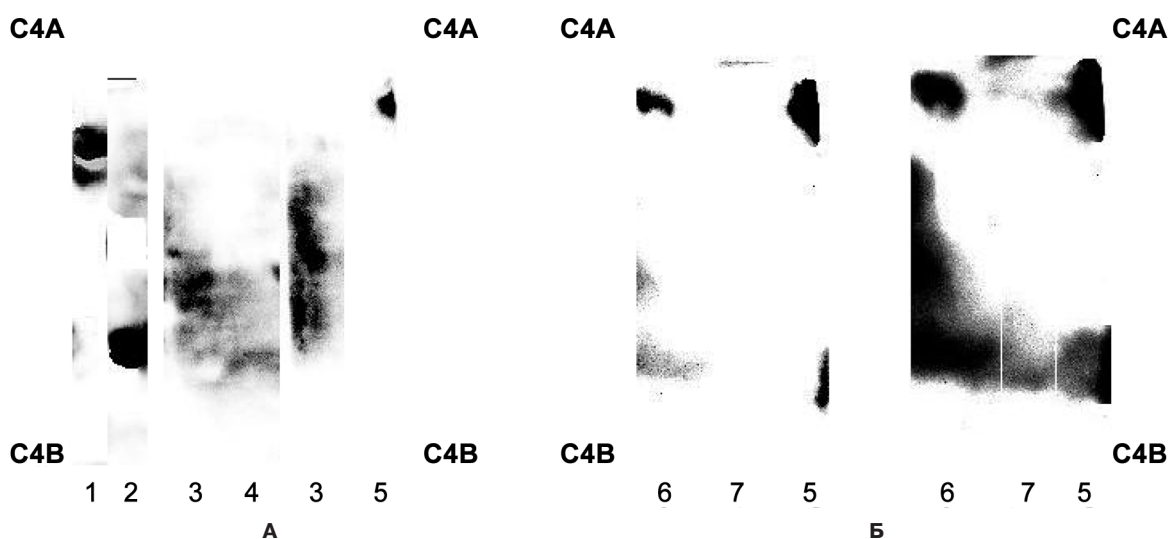


Рис. 3. Примеры разделения С4А и С4В асиалосывороток при их нанесении посередине геля в градиенте pH 3–5 (соответствует середине блота). Фото **А** (1–5) иллюстрирует возможность визуального наблюдения сыворотки (3) с одновременным дефицитом С4А и С4В (с нулевыми аллелями *Q0C4A* и *Q0C4B*); отсутствие изоотипов не зависит от pH-обработки (pH 7 – левый трек-3; pH 4 – правый трек-3) на фоне сывороток с одним дефицитом – С4А (2, 4) или С4В (1, 5). Фото **Б** иллюстрирует возможность проверки «нулевой» сыворотки (7) на фоне присутствия соседних С4А и С4В (слева, 6 и 8; С4А > С4В); повышение контраста (справа) выявляет сыворотку (7) с С4А < С4В. Сыворотки: 1 – 415, 2 – 404, 3 – С-Ай, 4 – С-Ле, 5 – 408; 6 – С-Де, 7 – С-Ба.

точных позиций изотипов. На рисунке 1 показано, что до сialiрирования сыворотка не дает характерное распределение С4А и С4В в дефицитных по одному из изотипов сыворотках пациентов.

В случае дефицитов обоих изотипов регистрируется картина отсутствия С4А и С4В в ожидаемых позициях (рис. 2).

Инактивация сывороточной СКЧ 10-кратным разбавлением дистиллированной водой с одновременным снижением в 10 раз дозы сialiридазы приводила к значительному снижению уровня С4В (в том числе в С4В-богатой сыворотке) и не была использована в процедуре десialiрирования.

Чувствительность метода – 0,3 мкл сыворотки в треке на пластине ПААГ при выявлении С4А (рис. 3) (7 мкл сыворотки – для идентификации обоих изотипов), точное установление полного дефицита изотипа и субизотипа. Такое устойчивое выявление С4А имеет дополнительные перспективы (по сравнению с менее устойчивым изотипом С4В) использования в мониторинга и диагностике болезней.

Анализ субизотипов изотипов С4А и С4В. рН 4-обработка (ацетатный буфер) блота-рН 7 приводила к выравниванию фона на блоте независимо от выбора интервала рН-градиента в ПААГ (результат обусловлен учетом имеющегося в наличии ацетат-связывающего субсайта каталитического центра пероксидазы хрена). До рН 4-обработки блота наблюдалась сильно выраженная диффузность и низкая дискретность разделенных изотипов и субизотипов. После рН4-обработки достигалось значительное возрастание дискретности субизотипов. Первоначально завышенные значения отношения С4А/С4В в случае блота-рН 7 (за счет завышенного фона в области С4А) в случае блота-рН 4 значения С4А (сумма субизотипов) / С4В (сумма субизотипов) лучше соответствовали значениям С4А/С4В, определенным микропанельным анализом функциональной активности изотипов. Реконструкция деталей паттернов улучшала выявление минорных субизотипов. В спорных случаях дополнительный контроль с использованием межмембранного (с иммобиллона на иммобиллон) кислого электроблоттингового переноса пероксидазной активности позволял подтвердить расположение субизотипов. Анализ паттернов позволял обоснованно идентифицировать редкие сыворотки с полным дефицитом обоих изотипов.

Результаты субизотипирования. Получены данные о визуальных паттернах субизотипов изотипа С4А (А1, А2, А3, А4 и А5 (А5 выявляется в более ранней кинетической картине Хл, как более близкая к аноду диагностическая форма у пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом)) и изотипа С4В (В0, В1, В2 и В3) сывороток пациентов. Можно прогнозировать риск инфекционных болезней при дефицитах (полных или частичных) субизотипов изотипа С4В.

В области расположения изотипов С4А и С4В в направлении от С4А к С4В выявлен градиент ГК (на примере ГП) по степени возрастания в ГК выраженности углеводной части. Градиент мог визуальнo контролироваться на уровне субизотипов. Повышен-

ный уровень гликозилирования областей в зоне расположения комплексов С4В объясняет повышенную гидрофильность и относительную нестабильность зоны С4В, по сравнению с зоной С4А.

Результаты указывают на присутствие нескольких кинетически регистрируемых диагностических паттернов (идентифицирующихся в разные, хотя и близкие, интервалы времени детекции Хл), что расширяет возможности для более точной диагностики болезни и оценки состояния пациента. Результаты указывают на возможности мониторингового субизотипирования сывороток в процессе выздоровления или ухудшения состояния здоровья пациента.

В целом изотипирование и субизотипирование С4 на блоте до и после рН 4-обработки дополняли друг друга (учет вклада субизотипов с повышенной гидрофильностью на блоте-рН 7 и с повышенной гидрофобностью на блоте-рН 4) и делали диагностико-прогностические выводы более надежными.

Алгоритм паттернового прогностического и диагностического иммунотипирования комплексной системы С4 пациентов включал этапы: 1. Использование блота 1 (с геля на мембрану)-рН 7 для оценки и ранжирования визуальной выраженности общего потенциала защиты на уровне С4 (как сумма диффузных областей С4А + С4В), противобелкового защитного изотипа С4А или противогликоконъюгатного защитного изотипа С4В в сыворотках пациентов. Выявление групп пациентов с высоким риском системных болезней (наличие дефицитов С4 (полных дефицитов обоих изотипов), дефицита С4В (С4А >> С4В), дефицита С4А (С4В >> С4А)); оценка сохраненного/остаточного изотипа как защитного потенциала. Выявление групп пациентов с устойчивым преимуществом изотипа (С4А > С4В или С4В > С4А) для дальнейшего мониторинга расходования изотипов. Выявление таких групп результат возможно только с использованием регистрации Хл в системе BioChem System (невозможно при использовании только микропанельного метода определения функциональной активности изотипов С4А и С4В). 2. Получение индивидуальных (уникальных) паттернов системы С4 пациентов на уровне мажорных наборов субизотипов В0–В3 и А1–А4 (табл. 1) для детализации путей расходования изотипов в диагностических целях. 3. Проведение дополнительных (в том числе независимых от используемого в работе метода) анализов в случаях: спорных, при отсутствии предварительного диагноза, в зависимости от поставленной цели, после установления инфекционной природы патологии.

Перспективы метода десialiрирования ГК: широта применения (ГП природные и рекомбинантные; эукариотические внеклеточные, из биологических жидкостей животных, ГК микроорганизмов); возможность использования частично очищенных сialiридаз и комбинаций сialiридаз; исследование специфичности выбранной/изучаемой сialiридазы в отношении стандартных ГП крови, других стандартных ГК; как предварительный этап анализа углеводного состава и структуры гликанов ГП и других ГК; снижение микрогетерогенности пулов ГК и индивидуальных

Примеры ранжирования субизотипов системы C4 сывороток пациентов

Пациенты, группы	Выраженность наиболее распространенных форм субизотипов	№
C4B >> C4A	B2(3+) > B1(2+) >> B0(-), B3(-); A4(+) > A3(±), A2(±) > A1(-)	1
C4B >> C4A	B1(3+) > B2(2+) > B0(+) >> B3(-); A2(±) > A1(-), A3(-), A4(-)	2
C4B >> C4A	B1(3+) > B2(2+) >> B0(-), B3(-); A2(3+) > A3(2+) > A1(±) > A4(-)	3
C4B >> C4A	B0(+), B1(+), B2(+) > B3(-); A3(+), A4(+) > A2(±) > A1(-)	4
C4B > C4A	B1(3+), B2(3+) >> B0(-), B3(-); A3(2+) > A2(+) > A1(±), A4(±)	5
C4B > C4A	B1(2+), B2(2+), B3(2+) >> B0(-); A2(3+) >> A1(-), A3(-), A4(-)	6
C4B >> C4A	B3(3+) > B2(2+), B1(2+) >> B0(-); A2(+) >> A1(-), A3(-), A4(-)	7
C4B > C4A	B2(2+) > B1(+) > B0(-), B3(-); A2(+) >> A1(-), A3(-), A4(-)	8
C4B << C4A	B2(+) > B0(±), B1(±) > B3(-); A2(3+) > A3(+) > A4(±), A1(±)	9
C4B << C4A	B1(2+) > B0(-), B2(-) > B3(-); A2(3+) > A3(2+) > A4(+) > A1(-)	10
C4B << C4A	[B0 + B1] (2+), [B2 + B3] (2+); A2(3+) > A3(2+) > A1(+) >> A4(-)	11
C4B << C4A	B1(3+) > B2(2+) >> B0(-), B3(-); A2(3+) > A3(2+) > A1(+) >> A4(-)	12
C4B << C4A	[B2 + B3] (2+) >> [B0 + B1] (-); A2(3+) > A3(2+) > A1(+) >> A4(-)	13
C4B < C4A	[B2 + B3] (+) >> [B0 + B1] (-); [A3 + A4] (2+) >> [A1 + A2] (-)	14
C4B < C4A	[B2 + B3] (±) > [B0 + B1] (-); [A1 + A2] (-), [A3 + A4] (-)	15
C4B < C4A	[B0 + B1] (-), [B2 + B3] (-); [A1 + A2] (2+) >> [A3 + A4] (-)	16

Примечание. Нумерация В- или А-субизотипов – от анода к катоду. Выраженность В- или А-субизотипов в шкале (0–3+). Сыворотки: 1 – антифосфолипидный синдром; 2 и 3 – СКВ; 4 – язва желудка; 5 и 6 – СКВ-подобные болезни; 7 и 8 – аллергические отеки; 9 и 10 – СКВ + антифосфолипидный синдром; 11 и 12 – противодифтерийные антибактериальные (против вакцины Кодивак); 13–16 – с неустановленной инфекционной патологией.

ГП и других ГК; воспроизводимое контролируемое получение десиалированных сывороток с аномальными (потенциально биомаркерными, в том числе органотропными) по углеводной части ГП и других ГК для дальнейшего их изучения; стандартизация реакции десиалирования сыворотки для использования также в процессе десиалирования клеток (эритроцитов и других; эффективность десиалирования дополнительно подтверждается по достижении максимальной цитоагглютинации лектином, например, конканавалином-А); повышение гидрофобности незаряженных ГП и других ГК и повышения их способности реагировать с АТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты указывают на новые возможности оценки состояния врожденной защиты организма (выявления полных и частичных дефицитов (суб)изотипов C4A и C4B СКЧ в новой более чувствительной – с высокой дискретностью полос диагностической области), простого – визуального паттернового контроля и мониторинга адаптивных процессов расщепления/потребления функционально активных (суб)изотипов C4A и C4B, взаимодействующих с ГК, в зависимости от типов аутоиммунных и инфекционных болезней. На основании полученных результатов предложен алгоритм полного диагностико-прогностического паттерна системных компонентов функционально активного C4 сывороток пациентов, предполагающего последовательный анализ изотипов и субизотипов системного компонента C4 СКЧ. Перспективы алгоритма определения визуальных

паттернов C4-зависимой системы пациента: возможности дальнейшего изучения субизотипического состава изотипов C4A и C4B сывороток пациентов (выявление новых диагностических биомаркеров и их комбинаций, кинетических паттерновых комбинаций, детальное изучение биохимического состава субизотипов); возможности дальнейшего усиления дискретности форм ГП (увеличения числа выявляемых форм) в условиях ИЭФ-ПААГ и на блоте (использование моноклональных АТ, иммунного сэндвича); возможности дополнительной очистки при получении иммобилизованных на мембране изотипов C4A и C4B и их субизотипов (дополнительная очистка компонентов системного C4, иммобилизованных на блоте, имеет место); возможности иммобилизации и очистки субполиклональных АТ, соответствующих основным субизотипам (преимущество использования регистрации Хл в кинетическом режиме); возможности практического использования полученных иммобилизованных биокатализаторов и их каскадов с элементами СКЧ, в том числе на основе функционально активных фрагментов изотипов C4A и C4B.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Козлов Л.В. Белки системы комплемента: активация и регуляция // Иммунология. – 1997. – № 2. – С. 8–13.
- Kozlov LV (1997). Proteins of complement system: activation and regulation [Belki sistemi komplementa: aktivatsiya i regulatsiya]. *Immunologiya*, 2, 8-13.

2. Козлов Л.В., Алешкин В.А., Андина С.С., Баталова Т.Н., Бичучер А.М., Гора Н.В., Гузова В.А., Дьяков В.Л., Колесникова В.А., Лахтин В.М., Лахтин М.В., Матвеевская Н.С., Новикова Л.И., Зоманов С.В., Скороходова Т.Г. Новое направление молекулярной диагностики – иммуоферментное определение функциональной активности компонентов классического и альтернативного путей комплемента // Молекулярная диагностика. Сборник трудов. – Том V – М.: ООО «Рекламное Агентство «ЭйВиДжи», 2011. – С. 138–141.

Kozlov LV, Aleshkin VA, Andina SS, Batalova TN, Bichucher AM, Gora NV, Guzova VA, Djakov VL, Kolesnikova VA, Lakhtin VM, Lakhtin MV, Matveyevskaya NS, Novikova LI, Zomanov SV, Skorokhodova TG (2011). New direction of molecular diagnostics: Immunoenzymatic measurement of functional activities of components of classic and alternative pathways of complement [Novoe napravlenie molekuljarnoj diagnostiki – immunofermentnoe opredelenie funkcional'noj aktivnosti komponentov klassicheskogo i alternativnogo putej komplementa]. *Molekuljarnaja diagnostika*, 5, 138–141.

3. Лахтин М.В., Караулов А.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Несвижский Ю.В., Афанасьев М.С., Воропаева Е.А., Алешкин А.В. Лектин-гликоконъюгатные системы в организме человека // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2012. – № 1. – С. 27–36.

Lakhtin MV, Karaulov AV, Lakhtin VM, Aleshkin VA, Afanasiev SS, Nesvizhsky YV, Afanasiev MS, Voropaeva MA, Aleshkin AV (2012) Lectin-glycoconjugate systems in human organism [Lektin-glikokonjugatnye sistemy v organisme cheloveka]. *Immunopatologiya. Allergologiya. Infektologiya*, 1, 27–36.

4. Лахтин М.В., Козлов Л.В., Лахтин В.М., Дьяков В.Л. Выявление дефицитов изотипов C4A и C4B компонентов комплемента человека изоэлектрофокусированием и по различию в химической реакционной способности активированных форм // Биоорганическая химия. – 2007. – Т. 33. – С. 464–469.

Lakhtin MV, Kozlov LV, Lakhtin VM, Djakov VL (2007). Revealing deficits of human complement components C4A and C4B using isoelectric focusing and by difference in chemical reaction ability of activated forms [Vyjavlenie deficitov izotipov C4A i C4B komponentov komplementa cheloveka izojelektrofokusirovaniem i po razlichiju v himicheskoy reakcionnoj sposobnosti aktivirovannyh form]. *Bioorganicheskaya khimiya*, 33, 464–469.

5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. Система комплемента – коммуникатор иммунитета человека // Materials of the XI International Scientific and Practical Conference, «Modern European Science». – 2015. – Вып. 8. – С. 59–67.

Lakhtin MV, Lakhtin VM, Afanasiev SS (2015). Complement system – a communicator of immunity of the person [Sistema komplementa – kommunikator immuniteta cheloveka]. *Materials of the XI International Scientific and Practical Conference «Modern European Science»*, 8, 59–67.

6. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Kozlov LV (2011) Chemiluminescent visualization and quantification of the complement glycoprotein C4 containing systems in patient whole sera separated with iso-electric focusing in polyacrylamide gel and electroblotting: sialidase- and peroxidase-based new approaches. *Glycoconjugate J.*, 28 (5), 296.

Сведения об авторах Information about the authors

Лахтин Михаил Владимирович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10; тел.: 8 (495) 708-02-62; e-mail: info@gabrich.com)

Lakhtin Mikhail Vladimirovich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology (125212, Moscow, ul. Admirala Makarova, 10; tel.: +7 (495) 708-02-62; e-mail: info@gabrich.com)

Лахтин Владимир Михайлович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора

Lakhtin Vladimir Mikhaylovich – Doctor of Biological Sciences, Chief Research Officer of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology

Афанасьев Станислав Степанович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора

Afanasiev Stanislav Stepanovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology

Алешкин Владимир Андрианович – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора

Aleshkin Vladimir Andrianovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology