

Сравнительный анализ уровня иммуноглобулинов E, G и концентрации циркулирующих иммунокомплексов в крови и лимфе при анафилактическом шоке и феномене Овери

Т. Р. Алиева

Azerbaijan Medical University, Department of Pathological Physiology
23, Bakihanov Street, Baku 1022, Azerbaijan

Corresponding author: (055)6365142, 0124954005. E-mail: lincoln_10@mail.ru
Manuscript received October 03, 2011; revised December 05, 2011

T. R. Alieva

Comparative analysis of changes of the level of circulating immune complexes in blood and lymph of animals with the experimental anaphylactic shock and Overy phenomenon

The aim of investigation was a comparative study of changes in the levels of circulating immune complexes, IgE and IgG in the blood and lymph of animals with anaphylactic shock and Ovary phenomenon. Experiments were conducted in three series. The study measured the levels of circulated immune complexes IgE and IgG in blood and lymph of a control group of intact animals. Concentration of immunocomplexes circulating in blood and lymph was investigated by the sedimentation of proteins in 3,5% poliethylenglucolum. The investigation was carried out by test system of the "Pharmingen" and the "Stat-Fax" analyzer. The study showed that anaphylactic shock increases the level of circulated immune complexes and IgE in blood and lymph but decreases the level of IgG. Changes in the level of circulated immune complexes in animals with the anaphylactic shock were more pronounced than in the Ovary phenomenon.

Key words: immunoglobulins, atopical reactions, circulating immune complexes, anaphylactic shock, Overy phenomenon.

Проведен сравнительный анализ уровня иммуноглобулинов (Ig) E, G и концентрации циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК) в крови и лимфе при анафилактическом шоке, феномене Овери. Как при atopических, так и при кожно-анафилактических реакциях уровень IgE в крови и лимфе повышается, а IgG снижается. В обеих реакциях концентрация ЦИК повышается, наиболее выраженным это повышение было при atopической реакции.

Ключевые слова: иммуноглобулины, atopические реакции, циркулирующие иммунные комплексы, анафилактический шок, феномен Овери.

В настоящее время имеется большой экспериментальный материал, подтверждающий патогенетическую роль иммунных комплексов, в ряде так называемых «иммунокомплексных» болезней. Судьба циркулирующих ИК существенно зависит от физико-химических свойств входящих в них антигена и антител. Длительная циркуляция ИК в кровотоке, их способность откладываться в стенках сосудов и тканях во многом определяются размером ИК и тем, что они могут фиксировать комплемент [1, 2]. Фиксация ИК на рецепторах эндотелиальных клеток вызывает повреждение и десквамацию последних. Активация лаброцитов и базофилов вызывает дегрануляцию и выделение гистамина, серотонина и других биологических веществ. С действием биологически активных веществ связано нарушение тонуса сосудов микроциркуляторного русла с последствием дистрофических и некротических процессов в сосудистой стенке [3].

Иммунные комплексы различают по классу входящих в них иммуноглобулинов, величине растворимости, наличию в их составе комплемента, аффинности к антигену и др. Повреждающее действие иммунных комплексов зависит от входящих в его состав антител [4]. При образовании ИК в молекуле ИгЖ или ИгМ активизируется

участок, к которому может присоединиться С₃ компонент комплемента. Патогенный эффект, обусловленный ИК, становится еще интенсивнее, если в образовании ИК принимает участие С₃ компонент и система комплемента активируется по классическому пути. Важным следствием образования ИК является нарушение свертывания крови. Фактор Хагемана является активатором, как свертывающей системы, так и системы комплемента. В последние годы появились данные о том, что у больных atopическими заболеваниями, как правило, отмечается гиперактивация В – системы иммунитета, нарастании числа плазматических клеток и уровня секретируемых антител (IgM, G, E, G₄) повышении количества циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Некоторые авторы отмечают корреляционную связь между содержанием в крови ЦИК, системой комплемента и тяжестью течения atopических заболеваний [5].

Исследования показали, что при адаптивной иммунной ответной реакции синтезируются несколько изотипных антител, большую часть которых составляет иммуноглобулин G. Только при atopических заболеваниях и паразитарных инфекциях увеличивается синтез IgE. Причина этого связана с заменой синтеза IgG на

IgE при этих реакциях [6, 7]. Также стало известно, что уровень антитела IgG непосредственно зависит от дозы антигена, поступающего в организм, а максимальная концентрация IgE получается от средних доз антигена, введенного в организм [8]. Учитывая вышеуказанное, нами исследовано изменение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в зависимости от уровней IgE и IgG при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Овери.

Материал и методы

Эксперименты проводились в 3 сериях: в I серии опытов эти показатели определены у 9 кроликов, с воспроизведенным анафилактическим шоком, во II серии – с феноменом Овери. Контролем служили исследуемые показатели ЦИК и иммуноглобулинов E и G в крови и лимфе интактных кроликов. Для воспроизведения анафилактического шока, животных сенсibilизировали подкожным введением 0,1 мл лошадиной сыворотки, разрешающая доза в объеме 1 мл вводилась в полость сердца. Для воспроизведения феномена Овери сенсibilизированному животному введена подкожно разрешающая доза лошадиной сыворотки, а в ушную вену – синька Эванса. При этом область инъекции окрашена в синий цвет.

Необходимая для опыта кровь взята из краевой вены ушной раковины кролика, а лимфа – из грудного лимфатического протока по методу А. А. Корниенко в модификации М. Х. Алиева и В. М. Мамедова [9]. Определение концентрации ЦИК произведена по методу Гриневича Ю. А. и Алферова А. Н. [10]. Метод основан на преципитации комплексов антиген-антитела 3,75% раствором полиэтиленгликоля с последующим фотометрическим определением оптической плотности преципитата на спектрофотометре 450 нм длины волны (Спекол, Германия) и указано в условных единицах.

Для определения уровня IgE и IgG в крови и лимфе применен метод твердого иммуноферментного исследования (ИФА). Эти иммуноглобулины определены с помощью комплекта тест-системы американской фирмы «Farmingen» и полуавтоматического анализатора STAT-FAX-2000(USA).

При статистической обработке полученных данных применены методы описательной статистики, ранговый критерий Уилкоксона-Манна-Уитни. Среднее значение полученных выборок применен в формате $M \pm m$ (min-max) [11].

Результаты и обсуждения

В результате исследования установлено, что как в стадии сенсibilизации, так и в решающей стадии анафилактического шока и феномена Овери уровень IgE повышается, а IgG снижается. А концентрация циркулирующих иммунных комплексов, как при анафилактическом шоке, также и феномена Овери повышается, но повышение это у животных с воспроизведенным анафилактическим шоком было более выразительно.

Так, если на стадии сенсibilизации анафилактического шока (7-й день) уровень IgE, повышаясь по сравнению с интактными животными, на 3,5 раза равнялся 35,6 мЕ/л, то уровень IgG в этом периоде повышался на 1,49 раза. На стадии анафилактического шока уровень IgE, повышаясь в 14,7 раза по сравнению с интактными животными, составил 151,2 мЕ/л. Концентрация IgG, по сравнению с показателем у сенсibilизированных животных понижаясь составила 8,5 г/л. Концентрация ЦИК в крови в сравнении с контрольными цифрами повышалась на 4,2 раза ($p < 0,001$) на стадии сенсibilизации (7-й день), а в стадии анафилактического шока (21-й день) наблюдалось повышение концентрации ЦИК до 6,5 раза ($p < 0,001$) больше чем у интактных. Так, его уровень в крови по сравнению с интактными животными повышался в 3 раза. После перенесенного анафилактического шока 3 животных погибли, и мы смогли взять кровь для определения уровня IgE, IgG и ЦИК у 6 животных. В период сенсibilизации феномена Овери уровень IgE, повышаясь в 1,2 раза, по сравнению с интактными животными, равнялся 12,6 мЕ/л, а уровень IgG повышался незначительно (6,9 г/л.), а концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышалась в 1,2 раза. Если у животных с воспроизведенным феноменом Овери уровень IgE, повышаясь в 1,6 раза по сравнению с интактными животными, равнялся 16,90 мЕ/л, то уровень IgG повышался на 1,7 г/л ($p < 0,001$), а уровень ЦИК в этот период повышался в 1,2 раза (таб. 1).

Таблица 1

Уровень IgE, IgG и ЦИК интактных животных в крови

Количество животных	Интактные животные		
	IgE	IgG	ЦИК
$M \pm m$	10,26±0,40	5,39±0,53	3,22±0,14
min	8	3	2,5
max	12	8	3,8

В период сенсibilизации феномена Овери уровень IgE повышаясь в 1,2 раза, по сравнению с интактными животными, равнялся 12,6 мЕ/л, а уровень IgG в период сенсibilизации по сравнению с соответствующим показателем у интактных животных повышался до 6,76 г/л ($p < 0,05$). Если у животных с воспроизведенным феноменом Овери уровень IgE, повышаясь в 1,6 раза по сравнению с интактными животными, равнялся 16,90 мЕ/л, то при феномене Овери эта цифра равнялась 9,7 г/л ($p < 0,001$). А концентрация ЦИК в период сенсibilизации феномена Овери повышается в сравнении с интактными животными в 1,9 ($p < 0,001$) раза, а у животных с воспроизведенным феноменом Овери в 4,8 раза ($p < 0,001$).

Изменения этих показателей в лимфе были несколько слабые по сравнению с кровью. Так, в период анафилактического шока уровень IgE и IgG в лимфе были в 11,2 и 1,3 раза выше чем у интактных животных и составили соответственно 50,17 мЕ/л и 4,03 г/л ($p < 0,01$). Концентрация ЦИК в лимфе в сравнении с контрольными цифрами повышалась в 2,2 раза ($p < 0,001$) на стадии

Таблица 2

Уровень IgE, IgG и ЦИК в крови при анафилактическом шоке, феномене Овери

Количество животных n=9	Анафилактический шок					
	7-й день сенсibilизации IgE	Период шока (21-й день сенсibilизации) IgE	7-й день сенсibilизации IgG	Период шока 21-й день сенсibilизации Ig G	7-й день сенсibilизации концентрация ЦИК	Период шока концентрация ЦИК
M±m	35,61±0,85	151,17±1,08	8,06±0,39	6±0,17	14,03±0,43	23,01±0,46
Min	32	148	6	5,2	11,2	20
Max	39	155	10	6,8	15,9	24,8
p <	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Количество животных n=9	Феномен Овери					
	День сенсibilизации IgE	Феномен Овери IgE	День сенсibilизации IgG	Феномен Овери IgG	День сенсibilизации концентрация ЦИК	Феномен Овери концентрация ЦИК
M±m	12,56±0,63	16,09±0,41	6,86±0,29	9,69±0,92	6,16±0,14	15,37±0,33
Min	10	15,6	4,9	6,6	5,5	13,2
Max	16	19	7,8	13,8	7	16,3
p <	0,001	0,001	0,05	0,001	0,001	0,001

Примечание: p – достоверный интервал по сравнению с интактной группой.

Таблица 3

Уровень иммуноглобулинов IgE и IgG и ЦИК в лимфе

Количество животных n=9	Анафилактический шок					
	7-й день сенсibilизации IgE	Период шока (21-й день сенсibilизации) IgE	7-й день сенсibilизации IgG	Период шока 21-й день сенсibilизации Ig G	7-й день сенсibilизации концентрация ЦИК	Период шока концентрация ЦИК
M±m	15,31±0,61	50,17±0,8	7,65 ±0,38	4,03±0,128	5,52±0,17	15,53±0,30
Min	13	48	6,3	3,2	4,8	14,1
Max	17	53	9	5	6,1	16,9
p <	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Количество животных n=18	Феномен Овери					
	День сенсibilизации IgE, МЕ/л	Феномен Овери IgE МЕ/л	День сенсibilизации IgG, г/л	Феномен Овери IgG	День сенсibilизации уровень ЦИК, моль/л	Феномен Овери Уровень ЦИК
M±m	5,54±0,32	8,5±0,36	5,42±0,23	9,69±0,92	4,8±0,017	10,07±0,21
Min	4,7	7	4,8	6,6	3,6	9,2
Max	7,2	10	6	13,8	5,3	10,9
p <	0,05	0,001	0,05	0,001	0,001	0,001

Таблица 4

Уровень иммуноглобулинов IgE и IgG и ЦИК в лимфе интактных животных

Количество животных, n=9	Интактные животные		
	IgE	IgG	ЦИК
M±m	4,48±0,35	2,92±0,13	2,51±0,17
Min	3	2,3	1,8
Max	6	3,5	3,2

сенсibilизации (7-й день), а в стадии анафилактического шока (21-й день) наблюдалось повышение концентрации ЦИК до 6,2 раза (p < 0,001) больше, чем у интактных.

Если при феномене Овери в лимфе уровни IgE и IgG, повышаясь по сравнению с показателями у интактных животных, составили соответственно 8,5 мЕ/л (p < 0,01) и 4,6 г/л (p < 0,001), то концентрация ЦИК в лимфе составила 10,07 ммол/л, что на 4 раза выше чем у интактных (таб. 2).

Обсуждение

Как показали исследования для атопического течения аллергического заболевания характерны низкие показатели ЦИК, которые коррелировали с высоким титром C₄ компонента комплемента и повышенной концентрацией IgE в сыворотке крови [12]. Тем временем, при других исследованиях, в анафилактическом шоке концентрация

ЦИК повышается, как на стадии сенсibilизации, так и на стадии шока [13]. В наших исследованиях уровень ЦИК повышается умеренно при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Овери.

Таким образом, наши исследования показали, что:

1. При atopических реакциях уровень IgE в крови и лимфе повышается, уровень IgG снижается.

2. В обеих аллергических реакциях концентрация ЦИК повышается, но при анафилактическом шоке это повышение больше выражено.

Литература

1. Лаврентьев ВВ, Константинова НА, Туманова ИА. Комплемент-связывающая активность миеломных и нормальных иммунных комплексов. *Микробиология и иммунология*. 1989;2:183-184.
2. Swierzko A, Sedzynski M, Kirikae T, et al. Role of the complement-lectin pathway in anaphylactoid reaction induced with lipopolysaccharide in mice. *Eur J. Immunol.* 2003;33:2842-2852.
3. Бельченко ДИ. Миелокарициты и лейкоциты циркулирующей крови и элиминации иммунных комплексов и ксеногенных антигенов, транспортируемых эритроцитами. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2010;2:35-38.
4. Промада НЕ. Функциональная активность системы комплемента и

- циркулирующие иммунные комплексы при аллергическом диатезе у детей: Автореф.дис. ... канд. мед. Наук. Свердловск, 1985.
5. Виноградова ЮЕ, Цветаева НВ, Леках ИВ, и др. Свободно циркулирующие и скрытые аутоантитела в сыворотке больных аутоиммунными цитопениями. *Иммунология*. 2008;3:163-166.
 6. Свищевская ЕВ, Алексеева ЛГ, Марченко АН, и др. Снижение продукции IgE рекомбинантными пептидами из основных белков аллергенов. *Иммунология*. 2006;2:91-97.
 7. Хаитов РМ, Игнатъева ГА, Сидорович ИГ. *Иммунология*. 2000;430.
 8. Свищевская ЕВ, Шевченко МА, Алексеева ЛГ, и др. Продукция IgG и цитокинов у больных atopическим дерматитом. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2005;1:40-45.
 9. Корниенко АА, Куликовский НН, Сорокатый АЕ. Катетеризация грудного протока в эксперименте. In: Актуальные вопросы топографической анатомии и оперативной хирургии. М., 1977;1:22-26.
 10. Додж М, Кината К, Стинсон К. The Cobb Group. Эффективная работа с Excel / Пер. с. англ., СПб: Питер, 2000;1067.
 11. Гриневиц ЮА, Альферов АН. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лабораторное дело*. 1981;8:493-495.
 12. Костинов МП, Гервасиева ВВ, Балаболкин ИИ. Циркулирующие иммунные комплексы при коревом вакцинальном процессе у детей с аллергическими заболеваниями. *Педиатрия*. 1993;36-38.
 13. Алиев СД, Ахундов ИА. Изменения иммунных нарушений при анафилактических реакциях и их коррекция микроэлементами. *Одлар Йурду Университетинин елми вя педагоџи хябярляри*. 2005;14:86-91.

Preparatele entomologice în tratamentul complex al hepatitei virale cronice

¹N. Bacinschi*, ¹V. Ghicavii, ²V. T. Dumbrava, ¹I. Pogonea

¹Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, ²Department of Internal Medicine Nicolae Testemitanu State Medical and Pharmaceutical University
165, Stefan cel Mare Street, Chisinau, Republic of Moldova
27, N. Testemitanu Street, Chisinau, Republic of Moldova

*Corresponding author: +37322205414, 205414. E-mail: pharmclin@yahoo.com

Manuscript received November 25, 2011; revised december 05, 2011

The entomological drugs in the treatment complex with chronic viral hepatitis

Entomologic treatment complex preparation in patients with chronic viral hepatitis contributed to the more reduction of asteno-vegetativ, algic and dispeptic syndromes and a semnificative decrease of transaminase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltranspeptidase activities and the total bilirubine level. The reduction of the intensity of lipid-peroxide processes increases synthetic hepatic function and the modulation of immune status.

Key words: entomologic drugs, entoheptin, imuheptin, imupurin, chronic viral hepatitis.

Энтомологические препараты в комплексном лечении хронического вирусного гепатита

Применение энтомологических препаратов в комплексном лечении больных хроническим вирусным гепатитом способствовало более эффективному устранению астено-вегетативного, болевого и диспептического синдрома, значительному уменьшению активности трансаминаз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы и уровня общего билирубина. Также отмечалось снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, повышение синтетической функции печени и модуляция иммунного статуса.

Ключевые слова: энтомологические препараты, энтогептин, имугептин, имупурин, хронический вирусный гепатит.