

9. Барановский Ю.Г., Ильченко Ф.Н., Шаповалова Е.Ю. Способ моделирования трофической язвы у лабораторных мышей в опытной модели. *Вестн. неотложной и восстановительной хир.* 2016; 1 (2): 258–260. [Baranovskiy Yu.G., Il'chenko F.N., Shapovalova E.Yu. Method for modeling trophic ulcers in laboratory mice in the experimental model. *Vestnik neotlozhnoy i vosstanovitel'noy hirurgii.* 2016; 1 (2): 258–260. (In Russ.)]

10. Андреев Д.Ю., Абрамова Н.В., Блинова М.И., Пинаев Г.П. Эффективность кожной пластики и дермального эквивалента в лечении обширных язв голени смешанного генеза. *Вестн. хир. им. И.И. Грекова.* 2013; 172 (1): 104–107. [Andreev D.Yu., Abramova N.V., Blinova M.I., Pinaev G.P. Effectiveness of cutaneous plastics and dermal equivalent in the treatment of extensive ulcers of the tibia of mixed origin. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova.* 2013; 172 (1): 104–107. (In Russ.)]

УДК 616: 612.017.1

© 2018 Алиева Т.Р.

Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов, уровней иммуноглобулинов классов Е и G и гистамина в крови и лимфе при анафилактическом шоке и феномене Артюса в эксперименте

Тарана Рзакулиевна Алиева*

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджан

Реферат

DOI: 10.17816/KMJ2018-059

Цель. Изучение изменения содержания концентрации циркулирующих иммунных комплексов, уровней иммуноглобулинов Е и G и гистамина в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса.

Методы. Эксперименты проведены на 27 кроликах породы шиншилла в двух сериях. Контролем служили исследуемые показатели концентраций циркулирующих иммунных комплексов, гистамина и иммуноглобулинов Е и G в крови и лимфе интактных животных.

Результаты. Уровень гистамина при анафилактическом шоке повышается в 3,8 раза, тогда как уровень иммуноглобулинов Е и G повышается соответственно в 14,7 и 3,5 раза в сравнении с интактными животными, а концентрация циркулирующих иммунных комплексов возрастает до 23 ммол/л за этот период. В условиях феномена Артюса уровень иммуноглобулина Е в крови повышается в 1,3 раза, а иммуноглобулина G — в 4,3 раза. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов возрастает в 11,8 раза, уровень гистамина повышается только в 3,5 раза в сравнении с интактными животными.

Вывод. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышается как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса; уровни иммуноглобулинов изменяются по-разному: при анафилактическом шоке происходит увеличение уровня иммуноглобулина Е и снижение иммуноглобулина G, а при феномене Артюса, наоборот, повышение уровня иммуноглобулина G и снижение иммуноглобулина Е; уровень гистамина увеличивается как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса, однако при анафилактическом шоке — более значимо; в повышении концентрации гистамина в обеих аллергических реакциях роль циркулирующих иммунных комплексов не исключена, но основная роль, по-видимому, принадлежит иммуноглобулину Е.

Ключевые слова: анафилактический шок, феномен Артюса, иммуноглобулины циркулирующие иммунные комплексы.

Determination of the concentration of circulating immune complexes, immunoglobulin E and G and histamine in the blood and lymph in experimental anaphylactic shock and Arthus phenomenon

T.R. Alieva

Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Aim. Study of the concentration changes of circulating immune complexes, immunoglobulin E and G and histamine in the blood and lymph in experimental anaphylactic shock and Arthus phenomenon.

Methods. Experiments were conducted on 27 chinchilla rabbits in two series. The studied levels of circulating immune complexes, histamine and immunoglobulin E and G in the blood and lymph of intact animals were used as a control.

Results. The level of histamine in anaphylactic shock increases by 3.8 times, while the level of immunoglobulin E and G increases by 14.7 and 3.5 times compared to intact animals, and the concentration of circulating immune complexes increases to 23 mmol/l during the same period. In Arthus phenomenon the level of immunoglobulin E in the blood increases by 1.3 times, and immunoglobulin G level increases by 4.3 times. The concentration of circulating immune complexes increases by 11.8 times, histamine level raises by 3.5 times compared to intact animals.

Conclusion. The concentration of circulating immune complexes increases both in anaphylactic shock and in Arthus phenomenon; immunoglobulin levels change in different ways: in anaphylactic shock an increase of immunoglobulin E level and decrease of immunoglobulin G level occur, while in Arthus phenomenon, to the contrary, an increase of immunoglobulin G level and decrease of immunoglobulin E level are observed; histamine level increases both in anaphylactic shock and in Arthus phenomenon, however, more significantly in anaphylactic shock; in both allergic reactions the role of circulating immune complexes in the increase of histamine concentration is not excluded, but apparently, the key role is given to immunoglobulin E.

Keywords: anaphylactic shock, Arthus phenomenon, immunoglobulins, circulating immune complexes.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) способны запускать механизмы воспалительных процессов, активируя систему комплемента с образованием анафилоксинов C3a и C5a, которые стимулируют выброс вазоактивных аминов, включая гистамин и 5-гидрокситриптамин [1]. Они принимают участие в патогенезе болезни в том случае, если, откладываясь в тканях, вызывают диффузное или локальное их повреждение за счёт активизации системы комплемента, агрегации тромбоцитов и усилении фагоцитоза.

Доказано, что ЦИК откладываются после введения веществ, вызывающих высвобождение вазоактивных аминов, включая гистамин [2, 3]. Также было установлено, что длительное введение подопытным кроликам антагонистов вазоактивных аминов способствует уменьшению отложения иммунных комплексов.

Известно, что у пациентов с atopическими заболеваниями, как правило, отмечают нарастание числа плазматических клеток и уровня секретируемых антител [иммуноглобулинов (Ig) классов M, E и G], повышение количества ЦИК. Отложение и повреждающее действие ЦИК зависит от класса Ig, входящих в состав комплексов [4, 5]. Так, у мышей линии NZB/NZWc возрастom происходит переключение класса IgM на IgG_{2a}, что совпадает с возникновением поражения почек.

Скорость выведения иммунных комплексов также зависит от класса Ig, входящих в их состав [6]. К примеру, IgG-комплексы связываются с эритроцитами и постепенно удаляются из кровотока, в то время как IgA-комплексы не связываются с эритроцитами, быстро исчезают из кровотока, формируя отложения в почках, лёгких и головном мозге. При некоторых заболеваниях, например ревматоидном артрите, ревматоидный фактор, IgG, анти-IgG продуцируются плазматическими клетками синовиальной ткани, затем эти антитела соединяются друг с другом и вызывают воспалительную реакцию [7].

Целью исследования было изучение концентрации ЦИК, уровней IgE и IgG, а также гистамина у животных на моделях с воспроизведённым анафилактическим шоком и феноменом Артюса.

Эксперименты проведены на 27 кроликах породы шиншилла (масса тела 2,5–3 кг) в двух сериях. Контролем (9 животных) служили исследуемые показатели гистамина, ЦИК, IgE и IgG в крови и лимфе интактных животных. В первой серии (9 животных) эти показатели определены у кроликов на модели анафилактического шока, во второй (9 животных) — на модели феномена Артюса.

Для воспроизведения анафилактического шока кроликов сенсибилизировали путём подкожного введения 0,1 мл лошадиной сыворотки, а разрешающую дозу (1 мл) вводили в полость сердца. Для воспроизведения феномена Артюса кроликов сенсибилизировали путём подкожного введения 1 мл лошадиной сыворотки в лопаточную область через каждые 5 дней; после 5-й инъекции в области введения лошадиной сыворотки развивался некроз.

Необходимую для опыта кровь брали из краевой вены уха кроликов, лимфу — из грудного лимфатического протока по методу А.А. Корниенко в модификации М.Х. Алиева и В.М. Мамедова [8]. Для взятия лимфы животных обезболивали с помощью кетамина (калипсола) с его введением в ушную вену в количестве 0,8 мл/кг.

Уровень гистамина определяли флюорометрическим методом, который основан на получении флюорофора с 0,1% ортофтальевым альдегидом с помощью аппарата «Биан-130» [9]. Определение концентрации ЦИК производили по методу [10]. Метод основан на преципитации комплексов антиген-антитело 3,75% раствором полиэтиленгликоля с последующим фотометрическим определением оптической плотности преципитата на спектрофотометре с длиной волны 450 нм (Спекол, Германия).

Для определения уровня IgE и IgG в крови и лимфе применяли метод твердофазного

иммуноферментного анализа [11]. Данные Ig определяли 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.

В результате исследования установлено, что содержание ЦИК как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса повышается, но увеличение у животных с воспроизведённым феноменом Артюса было более выразительным. Уровни иммуноглобулинов изменялись по-разному: при экспериментальном анафилактическом шоке происходило увеличение уровня IgE и снижение уровня IgG, а при феномене Артюса, наоборот, повышение уровня IgG и снижение IgE. Уровень гистамина увеличивался как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса, однако при анафилактическом шоке — более значимо (табл. 1).

Концентрация ЦИК в крови в сравнении с контрольными цифрами повышалась в 4,4 раза на стадии сенсibilизации (7-й день), а на стадии анафилактического шока (21-й день) происходило увеличение концентрации ЦИК в 7,1 раза ($p < 0,001$) в сравнении с показателями у интактных животных (23,01 ммол/л).

Уровень гистамина в это время в крови повышался в 1,6 раза по сравнению с интактными животными и составлял $0,79 \pm 0,04$ мМ/л. На стадии анафилактического шока (21-й день) отмечалось значительное увеличение уровня гистамина в крови — в 3,8 раза по сравнению с интактными животными ($1,89 \pm 0,06$ мМ/л против $0,49 \pm 0,04$ мМ/л, $p < 0,001$). Через 30 мин после шока уровень гистамина в крови снижался в 2,7 раза в сравнении с периодом шока.

Уровни Ig изменялись по-разному. Если на стадии сенсibilизации анафилактического шока (7-й день) уровень IgE в крови повышался по сравнению с показателями у интактных животных в 3,5 раза и составлял $35,61 \pm 0,86$ МЕ/л, то уровень IgG в этом периоде увеличивался лишь в 1,5 раза. На стадии анафилактического шока (21-й день) уровень IgE повышался в 14,7 раза по сравнению с показателями у интактных животных и составлял $151,17 \pm 1,08$ МЕ/л, тогда как уровень IgG в периферической крови по сравнению с показателями

у сенсibilизированных животных снижался до $6,00 \pm 0,17$ г/л.

После перенесённого анафилактического шока 2 животных пали, и мы смогли взять кровь только у 7 кроликов. В период сенсibilизации у животных зарегистрированы беспокойство и снижение массы тела. Других видимых изменений не отмечено. В период шока (на 21-й день сенсibilизации) у некоторых животных возникали кашель, потеря равновесия и непроизвольное мочеиспускание. У остальных животных эти явления носили слабо выраженный характер.

У кроликов с воспроизведённым феноменом Артюса, относящимся к иммунокомплексным реакциям, на стадии сенсibilизации (5-й день) концентрация ЦИК в крови в сравнении с контрольными цифрами повышалась в 4,5 раза ($p < 0,001$) на стадии сенсibilизации (5-й день), а на стадии феномена Артюса (25-й день) наблюдалось повышение концентрации ЦИК в 11,8 раза ($p < 0,001$), то есть больше, чем у интактных животных (38,14 ммол/л).

Концентрация ЦИК в лимфе в периоде сенсibilизации (7-й день) в сравнении с контрольными цифрами повышалась в 2,2 раза ($p < 0,001$), а на стадии анафилактического шока (21-й день) становилась в 6,2 раза ($p < 0,001$) больше, чем у интактных. Уровень гистамина в лимфе по сравнению с показателями у интактных животных увеличился в 1,4 раза ($p < 0,001$), в периоде шока (на 21-й день) — в 3,3 раза, составляя $2,12 \pm 0,04$ мМ/л ($p < 0,001$).

Содержание Ig изменялось следующим образом. Уровень IgG в крови и лимфе животных повышался, тогда как уровень IgE, напротив, снижался. Так, в периоде сенсibilизации феномена Артюса (5-й день) уровень IgE в крови повышался в 1,65 раза, а уровень IgG — в 1,8 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,001$). В периоде феномена Артюса уровень IgE в крови повышался в 1,6 раза по сравнению с интактными животными и был равен $16,56 \pm 0,63$ МЕ/л ($p < 0,001$). Уровень IgG повышался в 4,3 раза и составлял $23,13 \pm 0,72$ г/л ($p < 0,001$). Концентрация гистамина повышалась в период сенсibilизации в 1,3 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$), а в период разрешения — в 3,5 раза ($p < 0,001$).

В лимфе на 5-й день сенсibilизации феномена Артюса уровни IgE и IgG повышались по сравнению с показателями

Таблица 1. Динамика показателей уровней гистамина, иммуноглобулинов (Ig) классов E и G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в крови и лимфе при анафилактическом шоке и феномене Артюса [$M \pm m$ (max–min); n=9]

Показатели	Анафилактический шок			
	В крови		В лимфе	
	7-й день сенсibilизации	21-й день сенсibilизации	7-й день сенсibilизации	21-й день сенсibilизации
ЦИК, у.е.	14,03±0,43 [^] (15,9–11,2)	23,01±0,46 [^] (24,8–20)	5,52±0,17# (6,1–4,8)	15,53±0,30 [^] (16,9–14,1)
Гистамин, ммоль/л	0,79±0,04* (0,65–0,95)	1,89±0,06** (1,65–2,2)	0,90±0,02* (0,8–0,99)	2,12±0,04* (1,98–2,3)
IgE, ME/л	35,61±0,85* (39–32)	151,89±1,08* (155–148)	15,31±0,61* (17–13)	50,17±0,8* (53–48)
IgG, ME/л	8,06±0,39 (10–6)	6±0,17 (6,2–5,7)	7,65±0,38 (9–6,3)	4,03±0,128 (5–3,2)
Показатели	Феномен Артюса			
	В крови		В лимфе	
	5-й день сенсibilизации	25-й день сенсibilизации	5-й день сенсibilизации	25-й день сенсibilизации
ЦИК, у.е.	14,60±0,39# (16,1–12,8)	38,14±0,44* (40,1–36,5)	5,76±0,12* (6,2–5,2)	27,16±0,73 [^] (29,1–22,1)
Гистамин, ммоль/л	0,65±0,04 [^] (0,49–0,8)	1,75±0,05* (1,5–1,95)	0,72±0,02 [^] (0,65–0,79)	1,70±0,02* (1,65–1,81)
IgE, ME/л	19,11±1,12 [^] (24–14)	13,58±0,40* (15–12)	8,05±0,38 [^] (9,5–6,2)	6,32±0,33* (7–5)
IgG, ME/л	9,46±0,24 (10,5–8,5)	23,13±0,72 (26–20)	4,14±0,27 (5–2,9)	12,07±1,04 (14–8,8)
Показатели	Интактные животные			
	В крови		В лимфе	
ЦИК, у.е.	3,22±0,14 (3,8–2,5)		2,51±0,17 (3,2–1,8)	
Гистамин, ммоль/л	0,49±0,04 (0,3–0,65)		0,65±0,02 (0,56–0,79)	
IgE, ME/л	10,26±0,40 (12–8)		4,48±0,35 (6–3)	
IgG, ME/л	5,39±0,53 (8–3)		2,92±0,13 (3,5–2,3)	

Примечание: различия статистически значимы по отношению к интактной группе животных — *p < 0,001; [^]p < 0,05; #p < 0,01.

у интактных животных соответственно в 2,6 и 2,1 раза (p < 0,001), а уровень гистамина — в 1,1 раза (p < 0,05). На 25-й день сенсibilизации уровень IgE в лимфе составил 8,32±0,33 ME/л, IgG — 15,07±1,04 г/л, а содержание гистамина — 1,70±0,02 мМ/л (p < 0,001). Уровень IgE был умеренно повышенным как в периоде сенсibilизации, так и в периоде феномена Артюса, но менее выражено в сравнении с концентрацией IgG. В периоде феномена Артюса отмечалось значительное повышение содержания IgG, более выраженное в крови, чем в лимфе.

Концентрация гистамина повышалась в периоде Артюса больше в крови, чем в лимфе.

Некоторые исследователи отмечают, что иммунные комплексы, содержащие IgE, проводят антигены в фолликулы селезёнки. А последние стимулируют CD4⁺-Т-клетки [12, 13]. В наших исследованиях при анафилактическом шоке в эксперименте наблюдается значительное повышение уровня IgE и снижение уровня IgG [14]. При феномене Артюса, наоборот, зарегистрировано повышение уровня IgG и снижение IgE, с чем, по-видимому, связано

более лёгкое течение аллергии в сравнении с анафилактическим шоком.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышается как при анафилактическом шоке, так и при феномене Артюса. Однако увеличение у животных с воспроизведённым феноменом Артюса было более выраженным, что характерно для аллергических реакций III типа по Джеллу и Кумбсу.

2. При воспроизведённом нами анафилактическом шоке циркулирующие иммунные комплексы, содержащие иммуноглобулин E, стимулируют CD4⁺-T-клетки, которые приводят к повышению секреции интерлейкина-4, а последний повышает уровень иммуноглобулина E. Это приводит к более выраженному проявлению аллергических реакций.

3. При феномене Артюса, где происходит увеличение уровня иммуноглобулина G, содержащие его иммунные комплексы приводят к аллергическим заболеваниям с менее выраженными симптомами в сравнении с анафилактическим типом аллергических реакций.

4. В повышении концентрации гистамина в обеих аллергических реакциях роль циркулирующих иммунных комплексов не исключена, но основная роль, по-видимому, принадлежит иммуноглобулину E, содержание которого значительно повышается при анафилактическом шоке.

5. На наш взгляд, применение антигистаминных средств при атопических реакциях будет более эффективным, чем при иммунокомплексных реакциях, где секреция гистамина не столь выражена.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шмагель К.В., Королевская Л.Б., Черешнев В.А. Роль иммунных комплексов в активации иммунокомпетентных клеток при ВИЧ-инфекции. *Иммунология*. 2014; 35 (2): 117–120. [Shmagel' K.V., Korolevskas L.B., Chereshev V.A. Role of immune complexes in the activation of immune cells in HIV infection. *Immunologiya*. 2014; 35 (2): 117–120. (In Russ.)]

2. Schmid-Grendelmeier P., Fluckeriger S., Disch R. et al. IgE-mediated and T-cell-mediated autoimmunity against manganese superoxide dismutase in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115 (5): 1068–1075. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.01.065.

3. Мейл Д. *Иммунология*. М.: Логосфера. 2007; 549 с. [Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I.M. *Immunology*. 7th

ed. Elsevier, 2006. 482 p. Russ. ed.: Meyl D. *Immunologiya*. Moscow: Logosfera. 2007; 549 p.]

4. Прозоровский Н.С., Порошина Ю.А. Опосредованная активацией тучных клеток индукция *in vivo* гистамин-высвобождающей активности мононуклеарных клеток периферической крови при атопии. *Иммунология*. 2002; (2): 63–65. [Prozorovskiy N.S., Poroshina Yu.A. Mediated mast cell activation *in vivo* induction of histamine-releasing activity of peripheral blood mononuclear cells atopy. *Immunologiya*. 2002; (2): 63–65. (In Russ.)]

5. Гушин И.С., Зеврев А.И., Алёшкин В.А., Порошина Ю.А. Опосредованное IgG высвобождение гистамина из базофилов человека. *Патологич. физиол. и эксперим. терап.* 1983; (4): 18–21. [Gushchin I.S., Zebrev A.I., Aleshkin V.A., Poroshina Yu.A. IgG mediated histamine release from human basophils. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 1983; (4): 18–21. (In Russ.)]

6. Бельченко Д.И. Функциональная система нелимфоидных клеток в эритроцитарном клиренсе циркулирующих иммунных комплексов. *Иммунология*, 2013; 34 (2): 86–89. [Bel'chenko D.I. Functional system of non-lymphoid cells in clearance of red blood cells of circulating immune complexes. *Immunologiya*, 2013; 34 (2): 86–89. (In Russ.)]

7. Agnello V. Immune complex assays in rheumatic diseases. *Hum. Pathol.* 1983; (14): 343–334. DOI: 10.1016/S0046-8177(83)80120-8.

8. Корниенко А.А., Куликовский Н.Н., Сорокатый А.Е. Катетеризация грудного протока в эксперименте. *Актуал. вопр. топографич. анатомии и опер. хир.* 1977; (1): 22–26. [Kornienko A.A., Kulikovskiy N.N., Sorokatyuy A.E. Catheterization of thoracic duct in the experiment. *Aktual'nye voprosy topograficheskoy anatomii i operativnoy khirurgii*. 1977; (1): 22–26. (In Russ.)]

9. Прошина Л.Я. Исследование гистамина и серотонина в одной пробе крови. *Лабораторное дело*. 1991; (1): 90–93. [Proshchina L.Ya. Study of histamine and serotonin in one blood sample. *Laboratornoe delo*. 1991; (1): 90–93. (In Russ.)]

10. Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Кубатиев А.А. Способ определения циркулирующих иммунных комплексов. *Патогенез*. 2013; 11 (1): 74–79. [Shoybonov B.B., Baronets V.Yu., Panchenko L.F., Kubatiev A.A. Method of determination of circulating immune complexes. *Patogenez*. 2013; 11 (1): 74–79. (In Russ.)]

11. Кудяева О.Т., Ненашева Е.В., Козлов В.А. Определение содержания иммуноглобулинов в цельной крови. *Иммунология*. 2005; (3): 189–191. [Kudyaeva O.T., Nenasheva E.V., Kozlov V.A. Determination of the level of immunoglobulins in the whole blood. *Immunologiya*. 2005; (3): 189–191. (In Russ.)]

12. Ding Z., Dahlin J.S., Xu H., Heyman B. IgE-mediated enhancement of CD4 (+) T cell responses requires antigen presentation by CD 8α (–) conventional dendritic cells. *Sci. Rep.* 2016; 6: 28290. DOI: 10.1038/srep28290.

13. Ettinger R., Karnell J.L., Henault J. et al. Pathogenic mechanisms of IgE-mediated inflammation in self-destructive autoimmune responses. *Autoimmunity*. 2017; 50 (1): 25–36. DOI: 10.1080/08916934.2017.1280670.

14. Алиева Т.Р. Сравнительный анализ уровней иммуноглобулинов E и G и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Оверри. *Curierul medical*. 2011; (6): 3–6. [Alieva T.R. The comparative characteristic of level of histamine, IgE and IgG in blood and the lymph at the experimental anaphylactic shock and Artyus phenomenon. *Curierul medical*. 2011; (6): 3–6. (In Russ.)]