

Сравнительное определение концентрации лития, циркулирующих иммунных комплексов и активности комплемента в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса

Тарана Рзакулиевна Алиева*

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджан

Реферат

Цель. Сравнительное определение изменения концентрации лития, циркулирующих иммунных комплексов и активности комплемента в крови и лимфе животных при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса.

Методы. Эксперименты проведены на 27 кроликах породы шиншилла в двух сериях. Контролем служили исследуемые показатели микроэлемента лития, концентрации циркулирующих иммунных комплексов и активности комплемента в крови и лимфе интактных животных.

Результаты. На 7-й день сенсibilизации перед анафилактическим шоком титр компонентов комплемента в крови снижался по сравнению с показателями у интактных животных в 1,4 раза ($p < 0,001$), на стадии анафилактического шока отмечено резкое снижение его уровня, значения которого не определялись ($p < 0,001$). Концентрация циркулирующих иммунных комплексов в крови повышалась в 4,4 раза, а на стадии анафилактического шока (21-й день) зарегистрировано её повышение в 7,1 раза ($p < 0,001$). Концентрация лития снижалась до 0,03 ммоль/л на стадии анафилактического шока ($p < 0,001$). При феномене Артюса на стадии сенсibilизации (5-й день) титр комплемента в крови снижался в 1,1 раза ($p < 0,01$), в разрешающем периоде — в 10,1 раза ($p < 0,001$). Концентрация циркулирующих иммунных комплексов в крови повышалась в 4,5 раза ($p < 0,001$) на стадии сенсibilизации (5-й день), а на стадии феномена Артюса — в 11,8 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,001$).

Вывод. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышается при анафилактических и иммунокомплексных реакциях, причём существеннее при феномене Артюса (23 у.е. при анафилактическом шоке против 38,1 у.е. при феномене Артюса); уровень лития при анафилактическом шоке снижается в 5,2 раза, что свидетельствует об угнетающем действии данного микроэлемента при развитии аллергических реакций.

Ключевые слова: литий, циркулирующие иммунные комплексы, комплемент, анафилактический шок, феномен Артюса

Для цитирования: Алиева Т.Р. Сравнительное определение концентрации лития, циркулирующих иммунных комплексов и активности комплемента в крови и лимфе при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса. *Казанский мед. ж.* 2018; 99 (4): 635–639. DOI: 10.17816/KMJ2018-635.

Comparative measurement of concentration of lithium, circulating immune complexes and complement activity in blood and lymph in experimental anaphylactic shock and Arthus phenomenon

T.R. Alieva

Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Abstract

Aim. Comparative measurement of concentration of lithium, circulating immune complexes and complement activity in animals' blood and lymph in experimental anaphylactic shock and Arthus phenomenon.

Methods. Experiments were conducted on 27 chinchilla rabbits in double series. The studied values of lithium,

concentration of circulating immune complexes and complement activity in intact animals were used as controls.

Results. On day 7 of sensibilisation before anaphylactic shock the titer of complement components in the blood decreased by 1.4 times ($p < 0.001$) compared to parameters of intact animals, at the stage of anaphylactic shock sharp decrease of its concentration to undetermined values was observed ($p < 0.001$). The blood concentration of circulating immune complexes increased by 4.4 times, and at the stage of anaphylactic shock (day 21) its increase by 7.1 times was observed ($p < 0.001$). Lithium concentration decreased to 0.03 mmol/L at the stage of anaphylactic shock ($p < 0.001$). In Arthus phenomenon at the stage of sensibilisation (day 5) the blood complement titer decreased by 1.1 times ($p < 0.001$), during resolution period — by 10.1 times ($p < 0.001$). The blood concentration of circulating immune complexes increased by 4.5 times ($p < 0.001$) at the stage of sensibilisation (day 5), and at the stage of Arthus phenomenon — by 11.8 times compared to intact animals ($p < 0.001$).

Conclusion. The concentration of circulating immune complexes increases in anaphylactic and immunocomplex reactions, besides, more significantly in Arthus phenomenon (23 r.u. in anaphylactic shock versus 38.1 r.u. in Arthus phenomenon); lithium concentration in anaphylactic shock decreases by 5.2 times which is indicative of inhibitory action of this microelement in allergic reactions.

Keywords: lithium, circulating immune complexes, complement, anaphylactic shock, Arthus phenomenon.

For citation: Alieva T.R. Comparative measurement of concentration of lithium, circulating immune complexes and complement activity in blood and lymph in experimental anaphylactic shock and Arthus phenomenon. *Kazan medical journal*. 2018; 99 (4): 635–639. DOI: 10.17816/KMJ2018-635.

В литературе есть сведения о роли малых доз микроэлементов в реализации различных физиологических функций организма и их влиянии на иммунную систему [1]. Один из таких микроэлементов, содержание которого меняется в организме при аллергических реакциях, — литий (Li^+). Обычно этот микроэлемент применяют при лечении маниакально-депрессивных психозов и тиреотоксикоза. Литий дозозависимо стимулирует синтез интерлейкина-6, гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующего фактора, тормозит пролиферацию Т-клеток, усиливая ответную иммунную реакцию. Соли лития, также повышают уровень циклического аденозинмонофосфата в лимфоцитах, снижая пролиферацию Т-супрессоров. Ввиду того, что угнетение Т-супрессоров приводит к активации иммунного ответа, по-видимому, с этим связана роль снижения уровня лития при аллергических реакциях [2].

В настоящее время всесторонне изучена патогенетическая роль иммунных комплексов в ряде так называемых иммунокомплексных болезней. Повреждающая способность циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) зависит от физико-химических свойств входящих в них антигена и антител. Длительная циркуляция ЦИК в кровотоке, их способность откладываться в стенках сосудов и тканях во многом определяются размером ЦИК и тем, что они могут фиксировать комплемент [3].

Система комплемента крови оказывает значительное влияние на течение иммунных реакций. Связывание продуктов расщепления комплемента специфическими рецепто-

рами иммунокомпетентных клеток влияет на их кооперацию, индукцию иммунного ответа и поддержание его активности. Динамическую регуляцию иммунного ответа осуществляют анафилатоксины С3а и С5а. Система комплемента может влиять на течение многих иммунных процессов: локализацию и сохранение антигенов, клеточную кооперацию, метаболизм и функциональную активность иммунокомпетентных клеток, утилизацию ЦИК [4].

Образующиеся при активизации комплемента хемотаксические и анафилактические агенты (преимущественно С5а) вызывают аккумуляцию и активизацию полиморфноядерных лейкоцитов, приводящие к высвобождению лизосомальных ферментов и продуктов перекисного окисления. Некоторые авторы отмечают корреляционную связь между содержанием в крови ЦИК, системой комплемента и тяжестью течения атопических заболеваний [5]. Также показано, что люди с врождёнными дефектами системы комплемента предрасположены к развитию болезней иммунных комплексов [6].

Целью исследования было сравнительное определение изменения концентрации лития, циркулирующих иммунных комплексов и активности комплемента в крови и лимфе животных при экспериментальном анафилактическом шоке и феномене Артюса.

Эксперименты проведены на 27 кроликах породы шиншилла (масса тела 2,5–3 кг) в трёх сериях. Контролем служили показатели лития, ЦИК и компонентов комплемента в крови и лимфе интактных кроликов (9 голов).

В первой серии (9 голов) эти показатели определены у кроликов на модели анафилактического шока, во второй (9 голов) — на модели феномена Артюса. Для воспроизведения анафилактического шока кроликов сенсибилизировали путём подкожного введения 0,1 мл лошадиной сыворотки, а разрешающую дозу (1 мл) на 21-й день сенсибилизации вводили в ушную вену [7]. Для воспроизведения феномена Артюса кроликов сенсибилизировали путём подкожного введения 1 мл лошадиной сыворотки в лопаточную область через каждые 5 дней. После пятой 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 (2,0 мл) путём введения в ушную вену в дозе 0,8 мл/кг.

Атомно-абсорбционное определение лития было проведено на спектрометре ААС-300 (Perkin Elmer, США). Рабочие образцы сравнения были приготовлены разбавлением головного эталона, изготовленного на основе хлорида лития марки ЧДА [9].

Определение концентрации ЦИК проводили по методу Ю.А. Гриневич [10]. Метод основан на преципитации комплексов антиген-антитело 3,75% раствором полиэтиленгликоля с последующим фотометрическим определением оптической плотности преципитата на спектрофотометре (Спекол, Германия) при длине волны 450 нм. Определение активности комплемента в крови и лимфе проводили по методу Л.С. Резниковой [11].

При статистической обработке полученных данных применены методы описательной статистики, ранговый критерий Уилкоксона–Манна–Уитни. Среднее значение полученных выборок представлено в формате $M \pm m$ (min–max) [5].

В результате исследования установлено, что как на стадии сенсибилизации, так и в решающей стадии анафилактического шока и феномена Артюса концентрация ЦИК повышается, причём у животных с воспроизведённым феноменом Артюса более выражено. Титр комплемента снижается в период сенсибилизации и не определяется в периоде шока, а в период феномена Артюса снижается в 8,5 раза ($p < 0,001$). Содержание лития уменьшалось в обоих случаях, но наиболее выражено при анафилактическом шоке.

На стадии сенсибилизации (7-й день) титр комплемента в крови снижался по сравнению с показателями у интактных животных в 1,4 раза и составлял $29,0 \pm 0,8$ гемолитических единицы (г.е.). На стадии анафилактического шока зарегистрировано резкое снижение его уровня, значения которого не определялись. Концентрация ЦИК в крови в сравнении с контрольными значениями на стадии сенсибилизации (7-й день) повышалась в 4,4 раза, на стадии анафилактического шока (21-й день) — в 7,1 раза по сравнению с показателями у интактных животных.

Содержание лития в крови опытных животных в сравнении с контрольными цифрами снизилось в 1,5 раза на стадии сенсибилизации (7-й день). На стадии анафилактического шока (21-й день) отмечено выраженное снижение уровня лития в крови в среднем до 0,3 ммоль/л ($p < 0,001$), что было в 5,2 раза меньше по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных.

В период сенсибилизации у животных появлялись беспокойство и снижение массы тела. Других видимых изменений не отмечено. В период шока (21-й день сенсибилизации) у некоторых животных возникали кашель, потеря равновесия, непроизвольное мочеиспускание. У остальных животных эти явления носили слабо выраженный характер.

После перенесённого анафилактического шока 2 животных пали, в связи с чем кровь на исследование была взята только у 7 животных.

Если у животных с воспроизведённым феноменом Артюса на стадии сенсибилизации (5-й день) титр комплемента в крови снижался по сравнению с интактными животными в 1,1 раза, то в разрешающем периоде он составлял $4,8 \pm 0,2$ г.е. Концентрация ЦИК в крови в сравнении с контролем повышалась в 4,5 раза ($p < 0,001$) на стадии сенсибилизации (5-й день), а на стадии феномена Артюса (25-й день) — в 11,8 раза по сравнению с интактными животными (табл. 1). На стадии сенсибилизации (5-й день) содержание лития в крови было в 1,1 раза ниже, а после формирования очага гиперергического воспаления с некрозом — в 1,3 раза ниже, чем у интактных животных.

По сравнению с периферической кровью в лимфе зарегистрировано снижение изучаемых показателей. Так, в периоде сенсибилизации перед анафилактическим шоком титр комплемента в лимфе был в 1,4 раза ниже, чем у интактных животных, а в периоде шока он вообще не определялся. Концентрация ЦИК в лимфе в периоде сенсибилизации (7-й день) в сравнении

Таблица 1. Изменения показателей лития, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и комплемента в крови и лимфе при анафилактическом шоке и феномене Артюса

Показатели	Анафилактический шок (n=9)			
	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*	23,01±0,46*	5,52±0,17**	15,53±0,30*
Комплемент, г.е.	29,0±0,8***	0,0***	21,9±0,7***	0,0***
Литий, ммоль/л	1,04±0,11*	0,29±0,12*	1,03±0,03**	0,25±0,03*
Показатели	Феномен Артюса (n=9)			
	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**	38,14±0,44***	5,76±0,12***	27,16±0,73*
Комплемент, г.е.	36,4±0,3***	4,8±0,2***	20,7±0,3***	3,8±0,4***
Литий, ммоль/л	1,52±0,01**	1,20±0,01***	1,33±0,03***	0,86±0,03*
Показатели	Интakтные животные (n=9)			
	В крови		В лимфе	
	ЦИК, у.е.		ЦИК, у.е.	
3,22±0,14 (2,5–3,8)		2,51±0,17 (1,8–3,2)		
Комплемент, г.е.		Комплемент, г.е.		
41,1±0,7 (38–45)		31,2±0,5 (29,1–33)		
Литий, ммоль/л		Литий, ммоль/л		
1,60±0,03 (1,32–1,80)		1,59±0,03 (1,28–1,64)		

Примечание: статистическая значимость различий с интактной группой животных — *p <0,05; **p <0,01; ***p <0,001.

с контрольными значениями повышалась в 2,2 раза (p <0,001), а на стадии анафилактического шока — в 6,2 раза (p <0,001) по сравнению с интактными животными (см. табл. 1).

При феномене Артюса на 5-й день сенсibilизации концентрация ЦИК и титр комплемента по сравнению с показателями у интактных кроликов повышались в 1,1 раза (p <0,05). На 25-й день сенсibilизации (в периоде феномена Артюса) концентрация ЦИК повышалась в 10 раз (p <0,001), а титр комплемента снижался в 9 раз в сравнении с интактными животными.

На стадии сенсibilизации у опытных животных на месте инъекции сначала развивалась гиперемия, а затем — инфильтрация. Далее при формировании очага гиперергического воспаления (20–25-й дни сенсibilизации) у опытных животных на месте инъекции возникала окружённая некрозом гиперемия ткани. У всех животных отмечено повышение свёртываемости крови, как в периоде сенсibilизации, так и в периоде шока.

Некоторые исследователи наблюдали низкие показатели ЦИК, которые коррелировали с высоким титром компонента C4 комплемента

и повышенной концентрацией иммуноглобулина E в сыворотке крови при atopическом течении аллергического заболевания [12]. В наших исследованиях снижение концентрации лития приводит к повышению ЦИК и выраженному снижению титра комплемента при анафилактическом шоке и умеренному снижению при феномене Артюса. В результате исследования установлено, что изменения этих показателей в крови более значимы, чем в лимфе, за исключением комплемента, уровень которого в периоде шока не определяется как в крови, так и в лимфе.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышается при анафилактических и иммунокомплексных реакциях, причём более выражено при феномене Артюса (23 у.е. при анафилактическом шоке против 38,1 у.е. при феномене Артюса).

2. На стадии анафилактического шока концентрация циркулирующих иммунных комплексов повышалась в 7,1 раза по сравнению с показателем у интактных животных.

3. Уровень лития при анафилактическом шоке снижается в 5,2 раза, что свидетельствует об угнетающем действии данного микроэлемента при развитии аллергических реакций.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Подколзин А.А., Донцов В.И. *Факторы малой интенсивности в биоактивности и иммунокоррекции*. М.: Медицина. 1985; 280 с. [Podkolzin A.A., Dontsov V.I. *Factor of low intensity in the bioactivity and immunocorrection*. Moscow: Meditsina. 1985; 280 p. (In Russ.)]
2. Донцов В.И., Исмаилов Т.А. Применение микроэлемента лития при лечении бронхиальной астмы. *Патол. физиол. и эксперим. терап.* 1984; 5: 65–66. [Dontsov V.I., Ismailov T.A. Application of the lithium in the treatment of bronchial asthma. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 1984; 5: 65–66. (In Russ.)]
3. Гушчин И.С. IgE-опосредованная гиперчувствительность как ответ на нарушение барьерной функции тканей. *Иммунология*. 2015; 36 (1): 45–52. [Gushchin I.S. IgE-mediated hypersensitivity as a response to barrier tissue dysfunction. *Immunologiya*. 2015; 36 (1): 45–52. (In Russ.)]
4. Шатохин М.Н., Конопля А.И., Теодорович О.В., Караулов А.В. Цитокиновый статус и система комплемента при хроническом простатите. Фармакологическая коррекция нарушений. *Иммунология*. 2011; 32 (1): 321–324. [Shatokhin M.N., Konoplya A.I., Teodorovich O.V., Karaulov A.V. Cytokine status and the complement system in chronic prostatitis. Pharmacological correction of violations. *Immunologiya*. 2011; 32 (1): 321–324. (In Russ.)]
5. 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.
6. Swierczko 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. DOI: 10.1002/eji.200323949.
7. Баркаган З.С., Суханова Г.А., Бувевич Е.И. Анафилактический шок. *Консилиум*. 2000; (6): 6–9. [Barkagan Z.S., Sukhanova G.A., Buevich E.I. Anaphylactic shock. *Konsilium*. 2000; (6): 6–9. (In Russ.)]
8. Корниенко А.А., Куликовский Н.Н., Сорокатый А.Е. Катетеризация грудного протока в эксперименте. *Актуал. вопр. топографич. анатомии и опер. хирургии*. 1977; 1: 22–26. [Kornienko A.A., Kulikovskiy N.N., Sorokaty A.E. Catheterization of the thoracic duct in the experiment. *Aktual'nye voprosy topograficheskoy anatomii i operativnoy khirurgii*. 1977; 1: 22–26. (In Russ.)]
9. Lehmann W.D., Bahr U., Schulten H.R. Determination of lithium in microlitre amounts of human body fluids at therapeutic and normal levels by stable isotope dilution and field desorption mass spectrometry. *Biomed. Mass. Spectrom.* 1978; 9 (5): 536–539. DOI: 10.1002/bms.1200050906.
10. Гриневич Ю.А., Алфёров А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лабораторн. дело*. 1981; (8): 493–495. [Grynevich Yu.A., Alferov A.N. Determination of immune complexes in the blood of cancer patients. *Laboratornoe delo*. 1981; (8): 493–495. (In Russ.)]
11. Резникова Л.С. *Комплект и его значение в иммунологических реакциях*. М.: Медицина. 1967; 272 с. [Reznikova L.S. *Komplement i ego znachenie v immunologicheskikh reaktsiyakh*. (Complement and its importance in immunological reactions.) Moscow: Meditsina. 1967; 272 p. (In Russ.)]
12. Алиев С.Д., Ахундов И.А. Изменения иммунных показателей при анафилактических реакциях и их коррекция микроэлементами. *Odlar Yurdu Universitetinin elmi və pedaqoji xəbərləri*. 2005; (14): 86–89. [Aliiev S.D., Akhundov I.A. Changes in immune parameters in anaphylactic reactions and their correction by microelements. *Scientific and pedagogical news of Odlar Yurdu University, Baku*. 2005; (14): 86–89. (In Russ.)]