

## 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 сенсибилизации 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 сенсибилизации (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 сенсибилизации (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 ( $\text{Li}^+$ ). 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. *Комплемент 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.)]