

УДК:616-002-085.37-053-092.9-097:612.017.1

**КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ
ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ
ПРОЦЕССЕ У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО
ВОЗРАСТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ**

¹Коваленко Т.И., ²Климова Е. М., ¹Минухин В.В.

¹«Харьковский национальный медицинский университет», meduniver@knu.kharkov.ua

²Государственное учреждение «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины»

Одной из биологических функций иммуноглобулинов является нейтрализация антигенов с образованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). В работе было показано, что индукция воспаления бактериальных взвесей *P.aeruginosa* и *E.coli* у экспериментальных животных двух возрастных групп привела к повышению содержания ЦИК в сыворотке крови по сравнению с контрольными животными. После действия экспериментального комбинированного препарата состоящего из аминокислот, нуклеотидов, ферментов и витаминов (МФ) у молодых животных с воспалением, индуцированным взвесью *E.coli* выявили увеличение содержания ЦИК по сравнению со старшей группой животных на протяжении всего эксперимента. При введении препарата сравнения, содержащего манит и естественный антиоксидант бетакаротен (ПО) у животных двух возрастных групп интенсивность образования ЦИК зависела от последовательности введения взвеси *E.coli* и иммуномодулятора ПО. Выявили повышение содержания ЦИК лишь у тех животных, которым иммунокорректор ПО вводили до индукции воспалительной реакции.

Ключевые слова: ЦИК, *P.aeruginosa* и *E.coli*, возраст животных, миксфактор (МФ), полиаксидоний (ПО)

При физиологических условиях, образование и присутствие циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в жидкостях является одним из проявлений иммунного ответа организма на поступление антигенов, а также важным фактором, который обеспечивает иммунитет [1, 2, 3].

ЦИК выступают в качестве агентов, участвующих в регуляции иммунного ответа и поддержании связи между иммунной системой и другими регуляторными системами организма, и направлены на его защиту [4, 5]. В присутствии инфекционных антигенов и под действием иммуностимулирующих препаратов интенсивность образования ЦИК может меняться.

Целью данного исследования было исследование интенсивности процессов образования ЦИК в эксперименте у животных разного возраста, в условиях индуцированного воспалительного процесса с использованием бактериальных взвесей

P.aeruginosa и *E.coli*. А так же в эксперименте с воспалением индуцированным взвесью *E.coli* и после действия иммунокорректирующих препаратов МФ и ПО.

Материалы и методы

Материалом для эксперимента служила сыворотка крови белых крыс-самцов 3-х месячного возраста («молодые») массой 100 -140гр. (n=40) и 22-х месячные («старые») с массой тела 200 - 240 гр. (n=40). Первая (n=10) (3-х месячные самцы, животные этой группы внутрибрюшинно вводили 1,5 мл стерильного физиологического раствора) и вторая (n=10) (22-х месячные животные, которым внутрибрюшинно вводили 1,5 мл стерильного физиологического раствора) группы крыс служили контролем. Третьей (n=15) и четвертой (n=15) группе животных вводили внутрибрюшинно суточную агаровую культуру *Pseudomonas aeruginosa* № 27835 АТСС (вводили 1,5 мл взвеси бактерий, которая содержала 10⁹ КОЕ/мл). Пятой (n=15) и шестой (n=15) группе животных вводили внутрибрюшинно суточную агаровую культуру *Escherichia coli* № 25592 АТСС (вводили 1,5 мл взвеси бактерий, которая содержала 10⁹ КОЕ/мл). Контрольных и инфицированных животных выводили из эксперимента путём декапитации на 3 день - n=28, 5 день - n=26 и 7 день - n=26.

На втором этапе эксперимента из двух бактериальных взвесей *P.aeruginosa* и *E.coli* была выбрана взвесь *E.coli* поскольку она обладала более выраженным иммуногенным действием [6]. Ia (n=6) и IIa (n=6) группы крыс были контрольными после введения экспериментального комбинированного препарата состоящего из аминокислот, нуклеотидов, ферментов и витаминов (МФ) Двум возрастным группам животных с воспалением, индуцированным взвесью *E.coli* вводили МФ по 20 мкл – 3-х месячным крысам (IIIa группа n=6) и 40 мкл – 22-х месячным крысам (IVa группа n=6). Ib (n=6) и IIb (n=6) группы крыс были контрольными после введения препарата сравнения, содержащего манит и естественный антиоксидант бетакаротен (ПО). Двум возрастным группам животных с воспалением, индуцированным взвесью *E.coli* вводили ПО по 0,5 мл – 3-х месячным крысам (IIIb группы n=6) и 1 мл – 22-х месячным крысам (IVb группы n=6). Данные препараты вводили экспериментальным животным per os одной части группы (n=3) за 48 часов до заражения экспериментальных животных, а другой части группы (n=3) после 24 часов введения бактериальной взвеси *E.coli*. Контрольных животных выводили из эксперимента путём декапитации на 3 день - n=12. Инфицированных животных выводили из эксперимента путём декапитации на 3 день - n=12 и 7 день - n=12.

У экспериментальных животных забирали кровь для получения сыворотки и определяли в ней сывороточные концентрации ЦИК. Содержание ЦИК изучали у контрольных животных, после индукции воспалительного процесса (синегнойной и кишечной палочками) и после действия иммунокорректоров.

Принцип определения ЦИК основан на изменении величины светового рассеивания полиэтиленгликоля вследствие осаждения им ЦИК из сыворотки крови используя прибор спектрофотометр, длина волны 450 нм и определяли экстинцию (Е).

Для статистической обработки данных использовали интегрированную систему комплексного анализа BIOSTAT. Экспериментальные данные обрабатывались с помощью интегрированной системы для комплексного статистического анализа STATISTICA – 6. Выводы статистических гипотез проводили на уровне значимости $P \leq 0,05$.

не превышает интервала нормы, который составляет 50,0 условных единиц (Е). Ингибирование процессов образования ЦИК в присутствии инфекционных антигенов свидетельствует о развитии анергии в гуморальном звене иммунитета.

Содержание (ЦИК) в контрольной группе у молодых контрольных животных соответствовало норме. У контрольных животных старшего возраста (22-х мес.) концентрация ЦИК была в 2 раза ниже и составила $25,0 \pm 6,0$ усл. ед. После введения бактериальных взвесей *P.aeruginosa* и *E.coli* на 3 сутки эксперимента интенсивность образования ЦИК была выше в обеих возрастных группах (табл. 1).

Результаты и обсуждение

В норме ЦИК после их образования активно выводятся из организма и их концентрация стабильна,

Таблица 1. Концентрация ЦИК у животных разного возраста с моделью воспаления, индуцированного введением бактериальных взвесей *P.aeruginosa* и *E.coli*.

Возрастные группы животных с экспериментальной моделью воспаления	Бактериальная взвесь <i>P.aeruginosa</i>		Бактериальная взвесь <i>E.coli</i>	
	3 день			
3 мес. n=10	III	130,0±12,0*	V	161,0±13,0*
22 мес. n=10	IV	125,0±12,0*	VI	138,0±12,0*
5 день				
3 мес. n=10	III	120,0±12,0*	V	167,0±13,0*
22 мес. n=10	IV	146,0±13,0*	VI	179,0±14,0*
7 день				
3 мес. n=10	III	115,0±12,0*	V	140,0±12,0*
22 мес. n=10	IV	94,0±9,0*	VI	105,0±10,0*
Контрольные животные				
I	3 мес. n=10	51,0±7,0		
II	22 мес. n=10	25,0±6,0		

Примечание: * - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$

К 5 суткам интенсивность образования ЦИК была высокой в обеих группах по сравнению с контролем, а у старых животных достоверно более высокой, чем у молодых. К 7 суткам в период реконвалесценции у молодых и старых животных концентрация ЦИК достоверно снижалась по сравнению с первыми сроками исследования, однако у молодых животных связывание бактерии

иммуноглобулинами происходило более интенсивно, чем у старых животных, что свидетельствует о более высокой иммунной реактивности.

Введение пептидного препарата МФ контрольным животным значительно увеличило концентрацию ЦИК как у молодых, так и у старых экспериментальных животных (табл. 2).

Таблица 2. Концентрация ЦИК у животных разного возраста с воспалением, индуцированным бактериальной взвесью *E.coli* и стимуляцией иммуномодулятором МФ.

№ п/п группы	День вывода из эксперимента	Экспериментальный препарат МФ (усл. ед.)
--------------	-----------------------------	--

Ia (n=6)	Контрольные возрастные группы	3 день	112,0±4,0	
IIa (n=6)		3 день	160,0±13,0	
			За 48 часов	После 24 часов
IIIa (n=12)	Инфицированные возрастные группы	3 день	124,0±4,0	150,0±13,0*
		7 день	117,0±0,5	173,0±19,0*
IVa (n=12)		3 день	87,1±2,0*	67,0±15,0*
		7 день	80,0±9,0*	59,0±17,0*

Примечание:* - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$

Введение иммунокорректирующего препарата МФ до и после индукции воспаления взвесью *E.coli* значительно ингибировало содержание ЦИК у старых животных. У молодых экспериментальных животных, наоборот, введение иммунокорректора МФ привело к достоверному увеличению концентрации ЦИК,

особенно на 7 сутки исследования и составило 173,0±19,0 усл. ед. при контроле 112,0±4,0 усл. ед.

Введение препарата сравнения ПО контрольным животным так же значительно увеличило концентрацию ЦИК как у молодых, так и у старых экспериментальных животных (табл. 3).

Таблица 3. Концентрация ЦИК у животных разного возраста с воспалением, индуцированным бактериальной взвесью *E.coli* и стимуляцией иммуномодулятором ПО

№ п/п группы		День вывода из эксперимента	Препарат сравнения ПО (усл. ед.)	
Iб (n=6)	Контрольные возрастные группы	3 день	170,0±1,0	
		3 день	150,0±0,5	
			За 48 часов	После 24 часов
IIIб (n=12)	Инфицированные возрастные группы	3 день	202,0±2,0*	170,0±01
		7 день	208,0±2,0*	169,0±0,05
IVб (n=12)		3 день	224,0±13,0*	145,0±1,0
		7 день	179,0±8,0*	148,0±1,0

Примечание:* - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$

Введение иммунокорректирующего препарата сравнения ПО (за 48 часов до индукции воспаления взвесью *E.coli*) привело к увеличению содержания ЦИК у молодых животных на 7 сутки эксперимента, которое составило 208,0±2,0 усл. ед., при контроле 170,0±1,0 усл. ед. У животных старшей группы концентрация ЦИК была высокая на 3 сутки исследования и составила 224,0±13,0 усл. ед., при контроле 150,0±0,5 усл. ед.

Выводы

1. В контрольной группе животных старшего возраста (22-х мес.) концентрация ЦИК была в 2 раза ниже, чем у молодых (3-х мес.) контрольных животных.
2. После действия бактериальных взвесей *P.aeruginosa* и *E.coli* интенсивность образования ЦИК была достоверно увеличена в обеих возрастных группах экспериментальных животных, что свидетельствует об активации связывания иммуноглобулинами микроорганизмов.
3. Действие же иммунокорректирующего композитного пептидного препарата МФ значительно ингибировало образование ЦИК только у животных старшего возраста во все сроки эксперимента.
4. При введении препарата сравнения ПО выявили увеличение содержания ЦИК у молодых и старых животных до индукции воспаления бактериальной взвесью *E.coli*.

References

1. Ramanathan S. Regulation of cytokine-driven functional differentiation of CD8 T cells by suppressor of cytokine signaling 1 controls autoimmunity and preserves their proliferative capacity toward foreign antigens [Text] / S. Ramanathan, S. Dubois, J. Gagnon, S. Mariathasan // Journal Immunol. – 2010. – № 181 (1). – P. 357 – 366.
2. Fensterl V. Interferons and viral infections [Text] / V. Fensterl, G. C. Sen // Biofactors. – 2009. – № .35 (1). – P. 14 – 20.
3. Janczy JR. Immune complexes inhibit IL-1 secretion and inflammasome activation [Text] / JR. Janczy, C. Ciraci, S. Haasken et al. // Journal Immunol. – 2014. - № 193 (10). – P. 5190 – 5198.
4. Kadhum H. J. Occurrence and characteristics of cytotoxic necrotizing factors, cytolethal distending toxins and other virulence factors in Escherichia coli from human blood and faecal samples [Text] / H. J. Kadhum, D. Finlay, M. T. Rowe et al. // Epidemiology And Infection. – 2009. – № 103 (6). – P. 752 – 760.
5. Dubois D. Cyclomodulins in urosepsis strains of Escherichia coli [Text] / D. Dubois, J. Delmas, A. Cady et al. // Journal Clin Microbiol. – 2010. - № 48 (6). - P. 2122 - 2129.

6. Klimova Yelena Mihalovna. Evaluation factors immunoresistance primary experimental model of infection in animals of different ages [Text] / Yelena Mihalovna Klimova, Valeriy Vladimirovich Minukhin, Tatjana Igorevna Kovalenko, Alla Nikolaevna Agarkova // Immunology and Alergology. – 2014. – № 3. – P. 94-99.

**UDC: 616-002-085.37-053-092.9-097:612.017.1
CONCENTRATION OF CIRCULATING IMMUNE
COMPLEXES IN EXPERIMENTAL
GENERALIZED INFLAMMATORY PROCESS IN
ANIMALS OF DIFFERENT AGE UNDER ACTION
OF IMMUNOMODULATORS.**

Kovalenko T.I., Klimova Ye.M., Minukhin V.V. Under physiological conditions a formation and a presence of the CEC in liquids is one of the manifestations of the immune response to receipt of antigens and an important factor, which provides immunity. Circulating immune complexes act as agents involved in the regulation of immune response and maintaining communication between the immune system and other regulatory systems of the body and direction to his defense. The intensity of the formation of the CEC may vary under the influence of infectious antigens and immune preparations.

Material and methods. Material for the experiment were white male rats 3 months of age ("young") weighing 100 -140gr. (n = 40) and 22-month ("old") weighing 200 -240 g. (n = 40). And the first (n=10) and second (n=10) groups of rats served as controls. Third (n=15) and fourth (n=15) group of animals was injected intraperitoneal daily agar culture of *Pseudomonas aeruginosa* № 27835 ATCC (injected with 1.5 ml suspension of bacteria, which contained 109 CFU/ml). Fifth (n=15) and sixth (n=15) groups of animals were injected intraperitoneally daily agar culture of *Escherichia coli* number 25592, ATCC (injected with 1.5 ml of bacteria suspension which contain 109 CFU/ml). Control animals were taken from the experiment by decapitation 3rd day – n=20. Control and infected animals were taken from the experiment by decapitation at 3rd day - n=27, 5th day – n=27 and 7th day – n=26. In the second phase of the experiment Ia (n = 6) and IIa (n = 6) were the control group of rats following administration of the experimental composite preparation consisting amino acids, nucleotides, enzymes, vitamins (MF). In two age groups of animals with inflammation induced by *E. coli* suspension treated with MF 20 mcl 3-month rats (IIIa group n = 6) and 40 mcl 22-month rats (IVa group n = 6). Ib (n = 6) and IIb (n = 6) were the control group of rats after the injection of comparison, containing mannitol and natural antioxidant betakaroten (PO). In two age groups of animals with inflammation induced by *E. coli* suspension treated with PO 0,5 ml 3-month rats (IIIb group n = 6) and 1 ml 22-month rats (IVb group n = 6). Control animals were taken from the experiment by decapitation on 3rd day - n = 12. Infected animals were taken from the experiment by decapitation on 3rd day - n = 12 and 7th day - n = 12.

Results and discussion. One of the biological functions of the immunoglobulins is neutralization antigens to form circulating immune complexes. In the work it was shown that the induction of inflammation of *P.aeruginosa* and *E.coli* suspension in experimental animals of two age

groups led to the increase of the CEC in serum compared to control animals. After administration experimental composite preparation comprising amino acids, nucleotides, enzymes and vitamins (MF) in young animals with inflammation induced by *E. coli* suspension was revealed an increase the CEC, compared with an older group of animals throughout the experiment. When adding formulation containing mannitol and natural antioxidant betacarotene (PO), in the animals two age groups intensity CEC formation depended on the sequence of adding of suspension *E. coli* and immunomodulator PO. Was revealed elevated levels of CEC only, in those animals which immunocorrector PO was given to induce an inflammatory response.

Conclusion. In the control group of animals older age (22 months) the CEC concentration was 2 times lower than in the young (3 months) control animals. After the action of bacterial suspensions *P.aeruginosa* and *E.coli* formation CEC intensity was significantly increased in both age groups of experimental animals, indicating the activation of antigen binding immunoglobulin infection. The action of the immunocorrective composite peptide drug MF significantly inhibited the formation of the CEC only in older animals throughout the experiment. With the addition of immunocorrector PO revealed increase of the CEC in young and old animals to induce inflammatory of bacterial suspension *E.coli*.

Keywords: immune complexes, generalized inflammatory process, immunomodulators