

THE EFFECT OF CIA ON SERUM IgG LEVELS IN WISTAR RATS

Mire Spasov

Faculty of Medical Science, University "Goce Delcev"- Stip, Republic of North Macedonia,
mire.spasov@ugd.edu.mk

Abstract: Generally speaking, rheumatoid arthritis is a systemic disease followed by a complicated process of immune response and attack on the body's own organism, which results in inflammation, joint changes, development of vasculitis, changes in the nervous system and other systemic changes. Literature data indicate that rheumatoid arthritis is an autoimmune disease for which there is no cure, and therapy mainly consists of administering medications to relieve pain, improve the quality of life of patients and maintain working ability, with the extension of working life. Research and results obtained from experimental and clinical studies on the impact of RA on the human and animal organism, record changes that, among other things, occur in the biochemical parameters of serum samples. The subject of our interest in the paper are changes in the level of IgG in serum during arthritis. The main goal of our research was to induce RA using collagen type II in Wistar rats and to examine the differences in the parameters between the two groups of animals, the control and the treated group of male and female animals and to compare the results obtained between the sexes on the thirtieth and the sixtieth day after RA induction. For the research, eight-week-old white laboratory rats, male and female, were used, grouped into four groups: control 20 males, control 20 females, treated with collagen male 30 and treated female group 30 animals. The collagen for RA induction was prepared according to a specific protocol, and by pricking the right joint of the hind limb of the animals we introduced it into the body. We applied 100 µl of the collagen solution with 20 µl of physiological solution. Sera for analysis were obtained after centrifugation of the tubes, by decanting coagulated blood into monotubes. The IgG test was performed using a Dimension Max column chromatography apparatus. The IgG results in male animals in the first period have a significantly reduced IgG value. The IgG results in serum on the sixtieth day show that the level does not increase, but stagnates or decreases, but still remains close to the value on the thirtieth day after immunization. The IgG results in female animals have a significant decrease on the thirtieth day after treatment, compared to the control group. The IgG value on the sixtieth day remains almost the same as on the thirtieth day, and compared to the control group, there is a significant difference. The results obtained for male and female animals note the same dynamics of change in IgG levels in both sexes. It can be concluded that the tests of serum IgG levels in male and female experimental animals show a highly significant decrease in IgG values after collagen application, i.e. on the thirtieth day of treatment. It is characteristic that the reduced values are maintained in the second experimental period, i.e. on the 60th day. There is no statistically significant difference in the deviations in relation to the sex of the animals.

Keywords: RA, CIA, IgG, immunity, rat.

ЕФЕКТОТ НА CIA ВРЗ СЕРУМСКОТО НИВО НА IgG КАЈ WISTAR СТАОРЦИ

Мире Спасов

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“- Штип, Република Северна
Македонија, mire.spasov@ugd.edu.mk

Резиме: Генерално гледано ревматоидниот артритис е системско заболување следено со комплициран процес на имунолошки одговор и напад на сопствениот организам кој резултира со воспаление, зглобни промени, развивање на васкулитис, промени во нервниот систем и други системски промени. Литературните податоци наведуваат дека ревматоидниот артритис е автоимунско заболување за кое нема лек, а терапијата главно се состои во давање на медикаменти за ублажување на болката, подобрување на квалитетот на животот на пациентите и одржување на работната способност, со продолжување на работниот век. Истражувањата и резултатите добиени од експерименталните и клиничките студии за влијанието на RA врз човечкиот и анималниот организам, бележат промени кои, меѓу другото, настануваат и во биохемиските параметри од серумските примероци. Предмет на наш интерес во трудот се промените на нивото на IgG во серумот при состојба на артритис. Главната цел при нашето истражување беше да индуцираме RA со помош на колаген тип II кај Wistar стаорци и да се испитаат разликите во параметрите помеѓу двете групи на животни, контролната и третираната група машки и женски животни и компарација на добиените резултати помеѓу половите на триесетиот ден и на шеесетиот ден по индукцијата на RA. За истражувањето беа

користени бели лабораториски стаорци на возраст од осум недели, машки и женски, групирани во четири групи и тоа, контрола 20 машки, контрола 20 женски, третирана со колаген машки 30 и третирана женска група 30 животни. Колагенот за индуцирање на RA го подготвувавме според одреден протокол, а со боцкање во десниот зглоб од задниот екстремитет на животните го внесувавме во организмот. Аплициравме 100 μ l раствор од колагенот со 20 μ l физиолошки раствор. Серуми за анализи добивавме после центрифугирање на епруветите, со декантирање на коагулирана крв во моновети. Испитувањето на IgG беше со хроматографија во колона на апаратот Dimension Max. Резултатите за IgG кај машките животни во првиот период имаат сигнификантно намалена вредност за IgG. Резултатите за IgG во серумот на шеесетиот ден покажуваат дека нивото не се зголемува, туку стагнира или пак се намалува, но сепак останува блиску до вредноста од триесетиот ден после имунизацијата. Резултатите за IgG кај женските животни имаат сигнификантно намалување на триесетиот ден после третманот, споредено со контролната група. Вредноста на IgG на шеесетиот ден останува речиси иста со триесетиот ден, а споредена со контролната група бележи сигнификантна разлика. Добиените резултати за машките и женските животни нотираат иста динамика за промена во нивото на IgG кај двата пола. Може да се заклучи дека испитувањата на серумското ниво за IgG кај машките и женските единки на експерименталните животни покажуваат високо сигнификантно намалување на вредноста за IgG после апликацијата на колагенот, односно на триесетиот ден од третманот. Карактеристично е задржување на намалените вредности во вториот експериментален период, односно на шеесетиот ден. Нема разлика во отстапувањата кое е со статистичка значајност во однос на полот кај животните.

Клучни зборови: RA, CIA, IgG, имунитет, стаорец.

1. ВОВЕД

Досегашниот степен од развојот на науката сеуште не може да го дефинира настанувањето на ревматоидните болести. Многубројни автори само ги наведуваат можните причинители или пак ризик фактори за настанување на болеста, иако без некоја сигурност. Болеста се јавува најверојатно како последица од сложен процес на имунолошка автоагресија при што одбрамбениот механизам на организмот некои трансформирани протеини во истиот не ги препознава како свои и против нив создава антитела познати како автоантитела. Генерално кажано ревматоидниот артритис е системско заболување следено со комплициран процес на имунолошки одговор и напад на сопствениот организам кој резултира со воспаление во зглобната чашка, хипертрофија на синовиумот, зглобни промени и разорувања, развивање на васкулитис, промени во бубрезите, срцето, белите дробови, промени во скелетната мускулатура, појава на поткожни јазли и промени во нервниот систем. Најголем број од авторите се согласуваат дека имуноглобулините играат важна улога при процесот на имунолошката автоагресија. Библиографските податоци наведуваат дека ревматоидниот артритис е автоимунно заболување за кое нема лек, а терапијата главно се состои во давање на медикаменти за ублажување на болката, подобрување на квалитетот на животот кај пациентите и продолжување на работната способност. Нашите истражувања и резултатите добиени од истражувањата на други автори за влијанието на болеста врз човечкиот и анималниот организам нотираат промени во биохемиските вредности во крвта. Предмет на наш интерес во трудот беа промените на IgG при состојба на ревматоиден артритис. Главната цел при нашето истражување беше да индуцираме RA со помош на колаген кај стаорците и да се испитаат, од една страна разликата на вредностите за IgG помеѓу двете групи, а од друга страна да се направи споредба на добиените резултати и разликата помеѓу половите, во првиот и вториот експериментален период после индукцијата на артритисот.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За работа се користеа бели лабораториски стаорци на возраст од осум недели, машки и женски, одгледувани во дефинирани услови за експериментални иследувања. Истите беа групирани во четири групи и тоа;

- контрола 20 машки животни,
- контрола 20 женски животни,
- третирана со колаген тип-II машка група од 30 животни и
- третирана женска група со колаген тип-II, 30 животни.

Колагенот кој се користеше за индуцирање на RA го подготвувавме според дефиниран протокол, а се внесуваше со боцкање на животното во десниот зглоб од задниот екстремитет. Притоа, користевме прочистен колаген, бидејќи квалитетот на истиот влијае врз нивото на артритогенезата. Аплицираната количина беше 100 μ l раствор од колагенот и 20 μ l физиолошки раствор. Крвта за анализа на триесетиот ден после индуцирањето на артритисот ја земавме од опашката на стаорците, а на шеесетиот ден земавме крв после жртвувањето на животните. Серум добивавме со декантација во моновети, после центрифугирање на

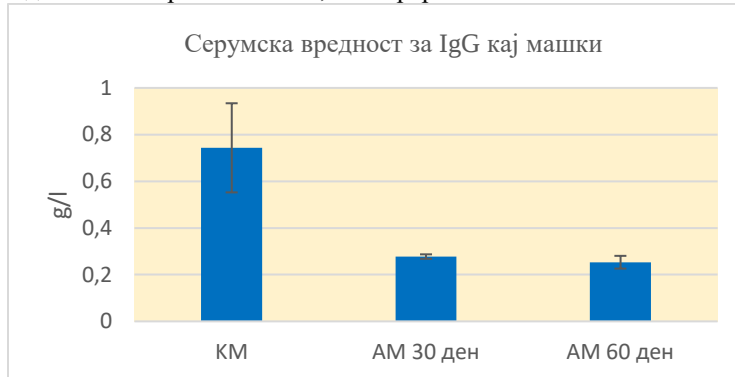
епруветите со полна крв. Испитувањето на IgG беше со хроматографија во колона на апаратот Dimension RL Max од производителот Siemens.

3. РЕЗУЛТАТИ

Резултатите за IgG кај експерименталните групи графички се претставени подолу. Кај машките во првиот експериментален период на истражувањето се гледа сигнификантно намалена вредност за IgG. Резултатите за IgG после развивањето на артритисот, односно на шеесетиот ден, во вториот период од испитувањата, покажуваат дека нивото стагнира или е намалено, но сепак е блиску до вредностите од триесетиот ден после имунизацијата и е на помало ниво споредено со контролата.

График 1. Ниво на IgG во серумот за машки.

Легенда: КМ-контролни машки; АМ-артрозни машки на 30ти и 60ти ден.



Извор: истражувања на авторот

Вредностите за IgG кај женските се претставени на вториот график, каде се гледа дека IgG кај женската популација има сигнификантно серумско намалување на триесетиот ден после третманот, споредено со контролната група. Вредноста на IgG на шеесетиот ден останува речиси иста со триесетиот ден, а споредена со контролата група бележи сигнификантна разлика.

График 2. Ниво на IgG во серумот за женски. Легендата е иста.



Извор: истражувања на авторот

Добиените резултати за машките и женските животни нотираат иста динамика на промена за нивото на IgG кај двата пола на експериментални стаорци. Вредностите кај контролите се различни за двата пола со повисоко ниво на параметарот кај машката група, но без статистичка важност. На шеесетиот ден, односно во периодот после вториот експериментален дел, кај машките има тенденција за намалување на вредноста за овој параметар во однос на триесетиот ден, а резултатот спореден со истата група на женски животни, исто така, е без статистичка значајност.

4. ДИСКУСИЈА

Добиените резултати сугерираат дека CIA има значајно супримирачко дејство врз нивото на IgG во серумот кај артрозните машки животни споредени со контролата. Притоа, јасно се забележува дека кај третираните

животни колагенот предизвикува статистички значајно намалување на концентрацијата на IgG. Процентуално вредноста на триесетиот ден е пониска за 63%, а на шеесетиот ден за 66% во споредба со контролната група, што претставува сигнификантна разлика. Со споредување на резултатите за IgG кај артрозните групи на триесетиот и шеесетиот ден се забележува процентуално намалена вредност за 8,8% што не е статистички значајна разлика. Слична разлика за IgG во крвта е забележана и кај артрозните женски единки на триесетиот и на шеесетиот ден после третманот споредено со нетретираниите. Од графициите се гледа дека иницијалниот РА има ефект на супресија врз IgG. Така, во првиот експериментален период процентуално вредноста е пониска за 59% споредено со контролната група, а на шеесетиот за 58%. Се забележува дека намалената серумска вредност за IgG во првиот експериментален термин се задржува и во вториот, што асоцијата на пролонгирано супримирачко дејство на CIA врз вредноста на овој параметар.

5. ЗАКЛУЧОЦИ

Испитувањата на серумското ниво за IgG кај животните покажуваат значајно намалување на IgG после апликацијата на колагенот, особено на триесетиот ден од третманот. Во вториот експериментален период, односно на шеесетиот ден, се забележува задржување на намалените вредности блиску до оние од триесетиот ден. Нема разлика во отстапувањата кои се со статистичка значајност во однос на полот кај животните.

ЛИТЕРАТУРА

- Ai, R., Boyle, D.L., Wang, W., Firestein, G.S. (2021). Distinct DNA methylation patterns of rheumatoid arthritis peripheral blood and synovial tissue T cells. *ACR Open Rheumatol.* 3:127- 132.
- Ainsworth, R.I., Hammaker, D. (2022). Systems-biology analysis of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes implicates cell line-specific transcription factor function *Nat. Commun.* 13: 6221.
- Alivernini, S., MacDonald, L. (2020). Distinct synovial tissue macrophage subsets regulate inflammation and remission in rheumatoid arthritis. *Nat. Med.* 26:1295-306.
- Arnett, F.C. (2021). The American Rheumatism Association 1987 Revised Criteria for the Classification of Rheumatoid Arthritis *Rheum* 31:315.
- Babaahmadi, M., Tayebi, B. (2023). Rheumatoid arthritis: the old issue, the new therapeutic approach. *Stem. Cell. Res. Ther.* 14:268.
- Balendran, T., Lim, K., Hamilton, J.A., Achuthan, A.A. (2023). Targeting transcription factors for therapeutic benefit in rheumatoid arthritis. *Front. Immunol.* 14:1196931.
- Boivin, D.B., Boudreau, P., Kosmadopoulos, A. (2022). Disturbance of the circadian system in shift work and its health impact. *J. Biol. Rhythms.* 37:3-28.
- Bruhns, P., Iannascoli, B., England, P., Mancardi, D.A., Fernandez, N., Jorieux, S., et al. (2009). Specificity and affinity of human Fcγ receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood* 113(16):3716–25. 10.1182/blood-2008-09-179754 [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- Cutolo, M., Straub, R.H. (2020). Sex steroids and autoimmune rheumatic diseases: state of the art. *Nat. Rev. Rheumatol.* 16: 628 44.
- Efferth, T., Oesch, F. (2021). The immunosuppressive activity of artemisinin-type drugs towards inflammatory and autoimmune diseases. *Med. Res. Rev.* 41:3023–3061.
- Ernst, L.K., van de Winkel, J.G., Chiu, I.M., Anderson, C.L. (1992). Three genes for the human high affinity Fc receptor for IgG (Fc γRI) encode four distinct transcription products. *J Biol Chem* 267(22):15692–700. [PubMed] [Google Scholar]
- Ferrante, A., Beard, L.J., Feldman, R.G. (1990). IgG subclass distribution of antibodies to bacterial and viral antigens. *Pediatr Infect (8 Suppl)*:S16–24. 10.1097/00006454-199008001-00004 [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- Girbal-Neuhausser, E., Durieux, J.J., Arnaud, M., et al. (2019). The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin auto-antibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol*; 162: 585-594.
- Gravallese, E.M., Firestein, G.S. (2023). Rheumatoid Arthritis - Common Origins, Divergent Mechanisms. *N. Engl. J. Med.* 388, 529–542.
- Huynh, D., Etzel, C., Cox, V., et al. (2013). SAT0268 Anti Citrullinated Peptide Antibody (ACPA) in Patients with Psoriatic Arthritis (PSA): Clinical Relevance. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: A673 doi:10.1136/annrheumdis-2013-eular.
- Ishii, K.J., Uematsu, S., Akira, S. (2006). Toll gates for future immunotherapy (Review). *Current Pharmaceutical Design.* 12(32): 4135-4142.

- Kim, E.Y., Sudini, K., Singh, A.K., Haque, M., Leaman, D., & Khuder, S. (2018). Ursolic acid facilitates apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by inducing SP1-mediated Noxa expression and proteasomal degradation of Mcl-1. *FEBS J.* 32, 6174–6185. doi:10.1096/fj.201800425r.
- Maeda, Y., & Takeda, K. (2019). “Host-microbiota interactions in rheumatoid arthritis,” *Experimental & Molecular Medicine*, vol. 51, no. 12, pp. 1–6.
- Nakamura, R.M. (2020). Progress in the use of biochemical and biological markers for evaluation of rheumatoid arthritis. *J Clin Lab Anal*; 14: 305-313.
- Ozen, S., Marks, S.D., Brogan, P., Groot, N., Graeff, N. De., Avcin, T. (2019). European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis — the SHARE initiative. *Rheumatol.* 1607–16.
- Rispens, T., Davies, A.M., Ooijevaar-de Heer, P., Absalah, S., Bende, O., Sutton, B.J. et al. (2014). Dynamics of inter-heavy chain interactions in human immunoglobulin G (IgG) subclasses studied by kinetic Fab arm exchange. *J Biol Chem* 289(9):6098–109. 10.1074/jbc.M113.541813 [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Roopenian, D.C., Christianson, G.J., Sproule, T.J., Brown, A.C., Akilesh, S., Jung, N. et al. (2003). The MHC class I-like IgG receptor controls perinatal IgG transport, IgG homeostasis, and fate of IgG-Fc-coupled drugs. *J Immunol* 170(7):3528–33. 10.4049/jimmunol.170.7.3528 [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- Schellekens, G.A., Visser, H., de Jong, B.A., et al. (2021). The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*; 43: 155- 163.
- Van Boekel, M.A.M., Vossenaar, E.R., Van den Hoogen, F.H.J., van Venrooij, W.J. (2021). Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res*; 4: 87-93.
- Xu, K., Ren, X., Ju, B., Aihaiti, Y., Cai, Y., Zhang, Y. (2021). Clinical markers combined with HMGB1 polymorphisms to predict efficacy of conventional DMARDs in rheumatoid arthritis patients. *Clin Immunol.* 221:108592.
- Yang, F., Qian, E., & Zhang, M. (2020). “ishen Tongluo formula ameliorates collagen-induced arthritis in mice by modulation of Th17/Treg balance,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 250, p. 112428.