

In Figure 2a we can see the XRD of the zinc oxides obtained after the heat treatment, which correspond to the data sheet of crystalline ZnO in the hexagonal phase. An important aspect of analyzing the diffractograms is the influence of the reaction conditions on the crystalline habits of the final product. This suggests the possibility of controlling not only the direction of preferential growth but also the morphology varying the solvent, as well as the pH. The SEM images of these photocatalysts confirm the structural differences mentioned, as can be seen in Figure 2b, where we can observe the formation of nanoflowers for pH 8 and heptagonal cylinders for pH10.

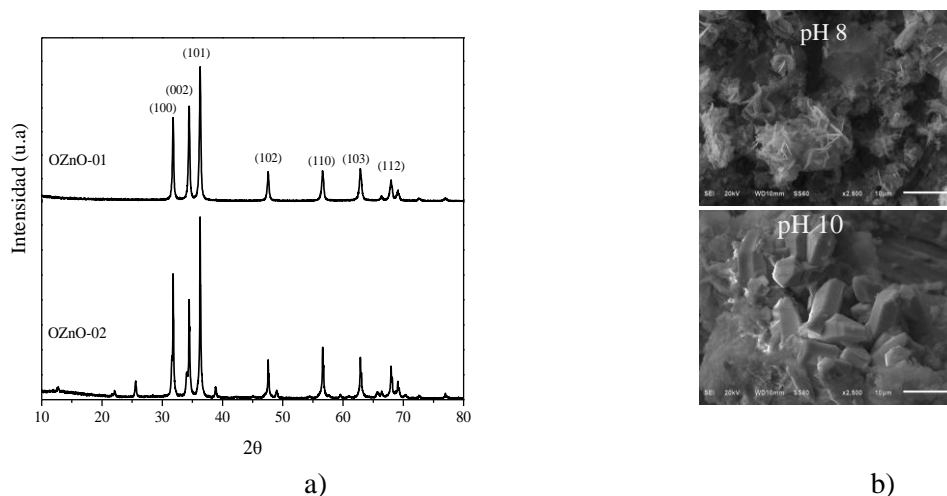


Figure 2 – a) ZnO XRD obtained with different pH. b) SEM images of the morphologies obtained from ZnO at two different pH values (8 and 10)

Conclusion.

It is possible through a simple microwave assisted methodology to have control over the morphology of TiO₂ and ZnO by varying parameters such as microwave irradiation time and pH. It is expected that having smaller variation intervals can be proposed a mechanism of growth that would indicate how these changes in morphology occur. However, these are proposed as a future work, as well as the effect of these morphologies in a practical application, specifically in the photocatalysis.

References:

1. Liu S., Yu J., Jaroniec M. Anatase TiO₂ with Dominant High-Energy {001} Facets: Synthesis, Properties, and Applications". *Chem. Mater.*, 2011, vol. 23, pp. 4085-4093.
2. Zhang B., Wei F., Wu Q., Piao L., Liu M., Jin Z. Formation and Evolution of the High-Surface-Energy Facets of Anatase TiO₂. *J. Phys. Chem. C*, 2015, vol. 119, pp. 6094-6100.
3. Nguyen C.K., Cha H.G., Kang Y.S. Axis-Oriented, Anatase TiO₂ Single Crystals with Dominant {001} and {100} Facets". *Cryst. Growth Des.*, 2011, vol. 11, pp. 3947-3953.
4. Tian J., Zhao Z., Kumar A., Boughton R.I., Liu H. Recent progress in design, synthesis, and applications of one-dimensional TiO₂ nanostructured surface heterostructures: a review. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, vol. 43, pp. 6920-6937.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ПОСЛЕДУЮЩЕГО УДАЛЕНИЯ ИЗ КРОВОТОКА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПРОЦЕССЕ ПИЩЕВАРЕНИЯ

Ланда С.Б., Семенова Е.В., Филатов М.В.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
мкрн Орлова роща, 1, г. Гатчина, 188300, РФ
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Аннотация. С помощью метода динамического светорассеяния мы обнаружили, что при пищеварении в крови крыс и человека образуется значительное количество иммунных комплексов. У крыс пищевые ИК практически сразу фильтруются в печени, не циркулируя с кровотоком по организму. У человека уровень пищевых иммунных комплексов в крови нарастает в течение 3.5 часов после приема пищи, затем происходит их постепенное удаление в течение 7-8 часов. При этом в период времени, когда уровень пищевых комплексов в крови достигает своего максимума, их размеры и вклад в суммарное рассеяние у различных доноров очень близки по своим значениям. Обнаружено, что в процессе пищеварения у человека изотипический состав иммуноглобулинов в ЦИК изменяется, становясь разнообразнее.

Обсуждаются возможные причины и молекулярно-клеточные механизмы описанных явлений.

Ключевые слова: изотипы иммуноглобулинов, метод динамического светорассеяния, пищеварение, циркулирующие иммунные комплексы.

PECULIARITIES OF THE FORMATION AND SUBSEQUENT REMOVAL OF THE CIRCULATION IMMUNE COMPLEXES FROM THE BLOODSTREAM DURING THE PROCESS OF DIGESTION

Landa S.B., Semenova E.V., Filatov M.V.

Petersburg nuclear physics institute named by B.P.Konstantinov
of National Research Centre «Kurchatov Institute»

Orlova Roscha 1, Gatchina, Leningrad district 188300, Russia
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Abstract. Using the method of dynamic light scattering, we found that a large number of immune complexes are formed in the blood of rats and humans during the digestion. In rats, food IC is almost immediately filtered in the liver, without circulating with the bloodstream through the body. In humans, the level of food immune complexes in the blood increases for 3.5 hours after ingestion, then within 7-8 hours their gradual removal takes place. At the same time, when the level of food complexes in the blood reaches its maximum, their sizes and contribution to the total scattering in different donors are very similar in their values. It was found that in the process of digestion in humans, the isotypic composition of immunoglobulins in the CIC changes and becomes more diverse.

Possible causes and molecular-cellular mechanisms of the described phenomena are discussed.

Keywords: Isotypes of immunoglobulins, dynamic light scattering method, digestion, circulating immune complexes.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) – макромолекулярные структуры, формирующиеся в результате специфического взаимодействия антигенов с бивалентными или мультивалентными антителами в биологических жидкостях организма. Состав ЦИК человека весьма разнообразен: ИК могут содержать достаточно большое количество различных антигенов, иммуноглобулинов, липопротеинов, белков системы комплимента (C1, C3, C4), и др. [1,2]. Иммунные комплексы образуются вследствие развития иммунного ответа организма на различные провоцирующие факторы и, по-видимому, отражают определенные аспекты этого процесса. Считается, что в норме ЦИК быстро элиминируются из кровотока, но при длительном влиянии антигенов их уровень в крови может повышаться [3]. Кроме того, избыточное накопление ЦИК может быть обусловлено дефектами системы комплимента, макрофагов и синтеза антител [4]. Осаждение ЦИК на стенки сосудов и базальные мембраны клеток стимулирует в них воспалительные процессы [5], приводящие к серьезным тканевым повреждениям.

Содержание иммунных комплексов повышается в сыворотке крови и других биологических жидкостях при различных системных нарушениях, в том числе при ревматологических и аутоиммунных заболеваниях, вирусных, бактериальных и паразитарных инфекциях, злокачественных новообразованиях и острых аллергических реакциях [6-10]. По-видимому, в процессе развития патологий изменяется не только уровень ЦИК, существенное изменение претерпевает и их структура. Физико-химические параметры (в первую очередь размер) и биологическая активность ИК зависят от свойств антигена и функциональных особенностей антител (изотип, гликозилирование, способность связывать комплемент) [11-13]. При этом информация о компонентах в составе ЦИК является более значимой, чем информация о свободных антигенах и антителах. Таким образом, всесторонний анализ ЦИК может служить основой для диагностики разного рода патологий, связанных с дефектами функционирования иммунной системы, иметь прогностическую ценность и контролировать эффективность применяемой терапии. Наряду с этим, выявление ИК в биологических жидкостях, оценка их размерности и определение изотипического состава иммуноглобулинового компонента в ЦИК будет способствовать лучшему пониманию особенностей некоторых метаболических процессов, протекающих в организме человека и животных.

Целью представленной работы является изучение кинетических характеристик формирования и удаления пищевых ЦИК, образующихся в крови человека после приема пищи, а также анализ изменения изотипического состава иммуноглобулинов иммунных комплексов, сопровождающие данный биологический процесс. Учитывая, что грызуны, в частности, крысы, часто используются в качестве лабораторных моделей при исследовании процессов пищеварения, с помощью метода ДСР мы провели серию аналогичных экспериментов на крысах.

Материалы и методы. Подготовка образцов крови для анализа методом ДСР. В эксперименте добровольно участвовали 10 здоровых мужчин в возрасте от 24 до 40 лет. Все добровольцы заполнили информированное согласие на предоставление биологических образцов для анонимных научных исследований.

Забор крови производили до еды и через 1.5; 3.5; 5; 7; 12 и 14 часов после еды. Получение плазмы крови и получение образцов были подробно описаны нами ранее [14,15].

Получение образцов сыворотки крови крыс для анализа ИК, образующихся в процессе пищеварения. В эксперименте использовались крысы линии «Вистер» весом около 250 г. Крыс делили на две группы, одна из которых в течение 3 дней получала полноценный пищевой рацион, а вторая в это время вообще не получала пищи. Затем крыс из обеих групп усыпляли, вскрывали и производили забор крови из воротной вены печени (Vena portae) и из нижней полой вены (Vena cava inferior). Всего в эксперименте участвовало 6 крыс: по 3 крысы в каждой группе. Кровь отбирали в стандартные пробирки с активатором свертываемости и инкубировали при 37 °С в течение 60 мин. до полного образования сгустка. Затем с помощью пастеровской пипетки с запаянным капилляром отделяли сгусток, после чего сыворотку центрифугировали при 1500g в течение 15 мин. Супернатант

отбирали и еще раз центрифугировали 30 мин. при 12000g. Полученный образец сыворотки разбавляли в 3 раза изотоническим фосфатным буфером (рН 7,2) с ионной силой, соответствующей ионной силе физиологического раствора (150 мМ NaCl), содержащим 10мМ ЭДТА и 1 мМ азида натрия. Каждый анализируемый образец сыворотки делили на две аликвоты, одна из которых служила контролем, а ко второй добавляли 10 объемных процентов белка А, иммобилизованного на сефарозных микросферах (20 мкл микросфер добавляли к 180 мкл сыворотки). Образцы сыворотки анализировали методом динамического светорассеяния по стандартному протоколу.

Методика проведения измерений и обработки полученных данных на лазерном корреляционном спектрометре «ПЛСС» также подробно описана нами ранее [14].

Результаты. Особенности формирования и утилизации ЦИК в процессе пищеварения у крыс. В эксперименте участвовали две группы крыс: первая группа животных в течение 3 дней получала полноценный пищевой рацион, а вторая - голодала. Для анализа методом ДСР использовали сыворотку крови крыс из воротной вены печени (Vena portae) и из нижней полой вены (Vena cava inferior).

Для выявления образующихся в процессе пищеварения ЦИК мы применили подход, связанный с избирательным удалением иммуноглобулинов и их комплексов из анализируемого образца крови с помощью иммобилизованного на частицах сефарозы белка А с последующим центрифугированием [15]. Сравнение полученных с помощью метода ДСР гистограмм субфракционного состава частиц образцов сыворотки крови, обработанных и не обработанных белком А, позволяет фиксировать наличие или отсутствие фракции крупных рассеивающих частиц, гидродинамический радиус которых соответствует размерам иммунных комплексов.

Результаты исследований образцов крови из воротной вены печени и из нижней полой вены у сытых и голодных крыс представлены на рисунке 1. На рисунке представлены гистограммы распределения частиц по размерам (PSD) у голодных крыс (см. рис. 1А и 1Б) и крыс, получающих полноценное питание (см. рис. 1В и 1Г) в крови взятой из воротной вены (см. рис. 1А и 1В) и нижней полой вены (см. рис. 1Б и 1Г). Как известно, воротная вена у животных – это венозный ствол, по которому кровь от желудка и кишечника проходит в печень. Нижняя полая вена, являющаяся наиболее крупной веной организма, собирает венозную кровь от большей части органов брюшной полости и таза, стенок этих полостей и нижних конечностей. Сравнивая кровь из воротной вены печени и нижней полой вены, можно получить информацию об изменениях в составе крови вследствие фильтрационных процессов, осуществляемых печенью. Таким образом, исследуя кровь из этих двух вен с помощью спектрометра ДСР, мы фактически анализируем работу печени по утилизации ЦИК.

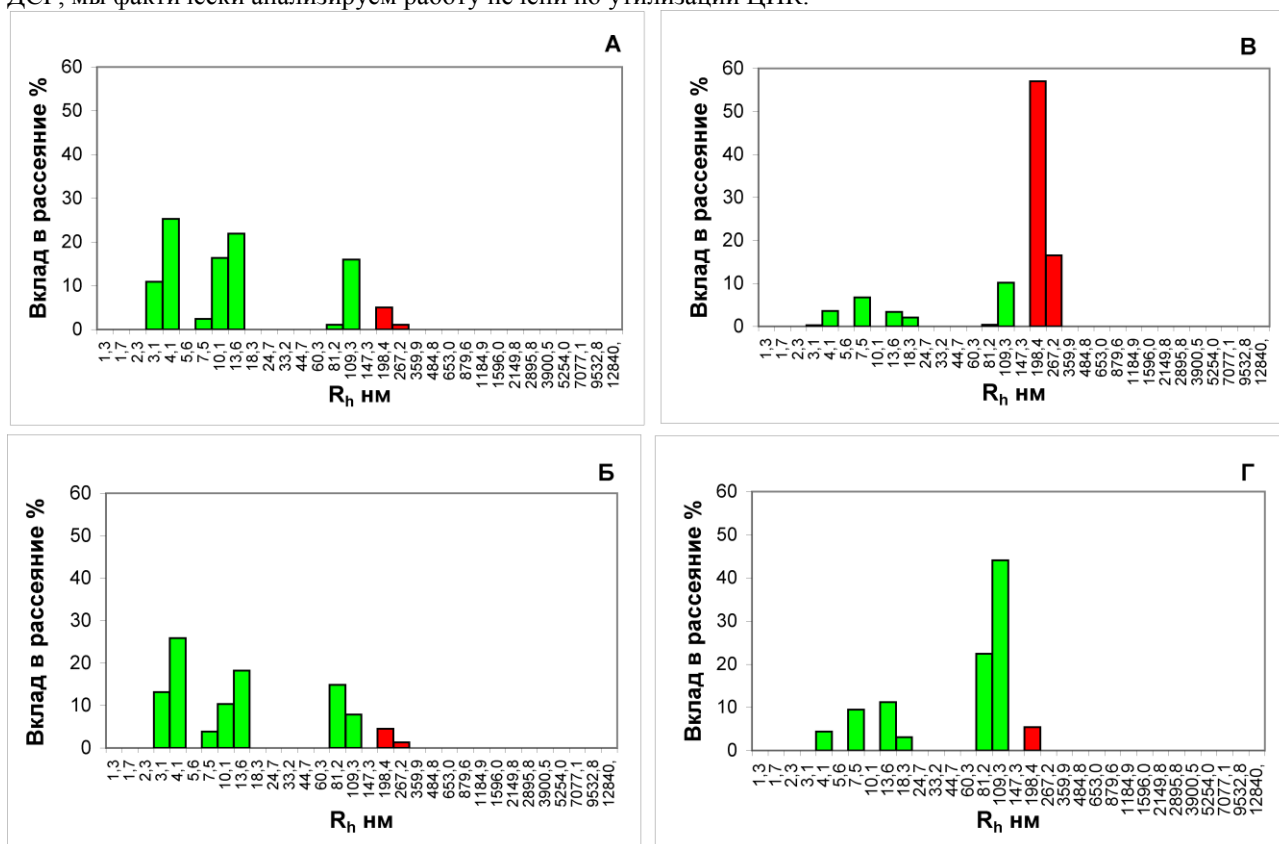


Рисунок 1 – Гистограммы распределения частиц по размерам образцов сыворотки крови голодных крыс (А и Б) и крыс, получающих полноценный пищевой рацион (В и Г). Кровь взята из воротной вены печени (А и В) и нижней полой вены (Б и Г). По оси Х – гидродинамический радиус частиц в нм, по оси Y – вклад в рассеяние в %

Сравнение гистограмм А и Б на рисунке 1 не обнаруживает никаких изменений в субфракционном составе частиц сыворотки крови голодающих в течение 3-х дней крыс до и после фильтрации в печени. Вклад в рассеяние фракции частиц, соответствующей ИК, в крови, поступающей в печень их желудочно-кишечного тракта (6.1 %, см. рис. 1А), практически совпадает с аналогичным показателем в крови после прохождения печени (5.8 %, см. рис. 1Б) у голодающих крыс. Напротив, вклады в рассеяние частиц с гидродинамическим радиусом, соответствующим ИК, у крыс, получавших нормальный пищевой рацион в образце крови, взятом из воротной вены, и нижней полой вены существенно различаются. В крови животного присутствуют крупные белковые агрегаты с гидродинамическим радиусом R_h порядка 200-300 нм (см. рис. 1 А), исчезающие после обработки сыворотки иммобилизованным на сефарозных микросферах белком А (данные не показаны). Эти белковые агрегаты идентифицированы нами как пищевые ЦИК. При этом вклад в рассеяние таких частиц в воротной и нижней полой венах различается более чем на порядок (73.3 %, см. рис. 1В против 5,4 %, см. рис. 1Г).

Таким образом, представленные результаты позволяют нам утверждать, что в процессе пищеварения в кишечнике крыс образуется значительное количество иммунных комплексов, диффундирующих в кровь. Эти пищевые иммунные комплексы полностью утилизируются в печени.

Особенности формирования и утилизации ЦИК в процессе пищеварения у человека. В данном исследовании мы определяли суммарный вклад в рассеяние фракции иммунных комплексов и изотипический состав иммуноглобулинов пищевых ЦИК. Анализ результатов показал, что у всех обследованных доноров после принятия пищи в крови постепенно нарастает уровень иммунных комплексов, достигающий своего максимума через 3.5 часа.

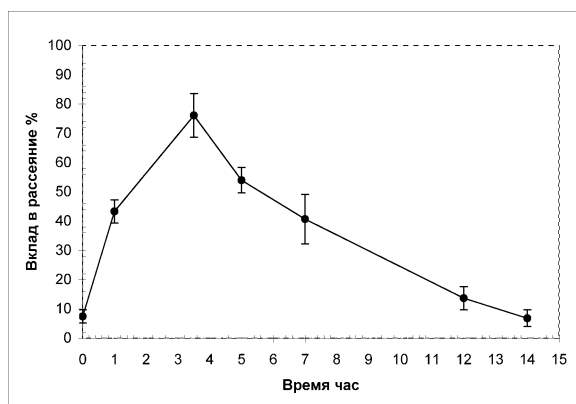


Рисунок 2 – Динамика накопления иммунных комплексов в крови здоровых молодых мужчин после принятия пищи. По оси X – время после принятия пищи, часы; по оси Y – вклад в рассеяние фракции иммунных комплексов в %.

Как следует из рисунка 2, базовый уровень в сыворотке крови вклада в рассеяние фракции частиц, соответствующих ИК, составлял в среднем менее 10%. Максимальный вклад ИК в рассеяние наблюдался через 3.5 часа и достигал почти 80%. Затем вклад фракции ИК в рассеяние уменьшался и достигал базового уровня через 14 часов после приема пищи.

Анализ изотипического состава иммуноглобулинового компонента ЦИК показал, что до принятия пищи у всех обследованных доноров в составе ЦИК преимущественно представлены иммуноглобулины изотипа G1. По прошествии 3.5 часов после приема пищи изотипический состав иммуноглобулинов в ИК расширяется (см. рис. 4): наряду с комплексами изотипа G1, количество которых увеличивается до 33.1 ± 1.6 % (рис. 4Б), появляется незначительное количество комплексов изотипа G3 (4.1 ± 0.9 %) (см. рис. 4В), а содержание комплексов изотипа А становится преобладающим (42.0 ± 0.8 %) (см. рис. 4Г).

На основании представленных данных можно сделать вывод, что процесс пищеварения у людей сопровождается образованием ЦИК, уровень которых в крови достигает максимального значения по прошествии 3.5 часов. При этом первоначально в составе ИК представлены преимущественно иммуноглобулины изотипа G1. Однако, затем набор изотипов иммуноглобулинов в составе пищевых ИК становится разнообразнее. Через 3.5 часа начинается постепенный спад количества пищевых ИК в крови, и по прошествии 14 часов после приема пищи их концентрация падает до значений, соответствующих первоначальному уровню (до приема пищи). Повидимому, наблюдаемое снижение уровня пищевых ИК отражает процессы постепенной утилизации в печени.

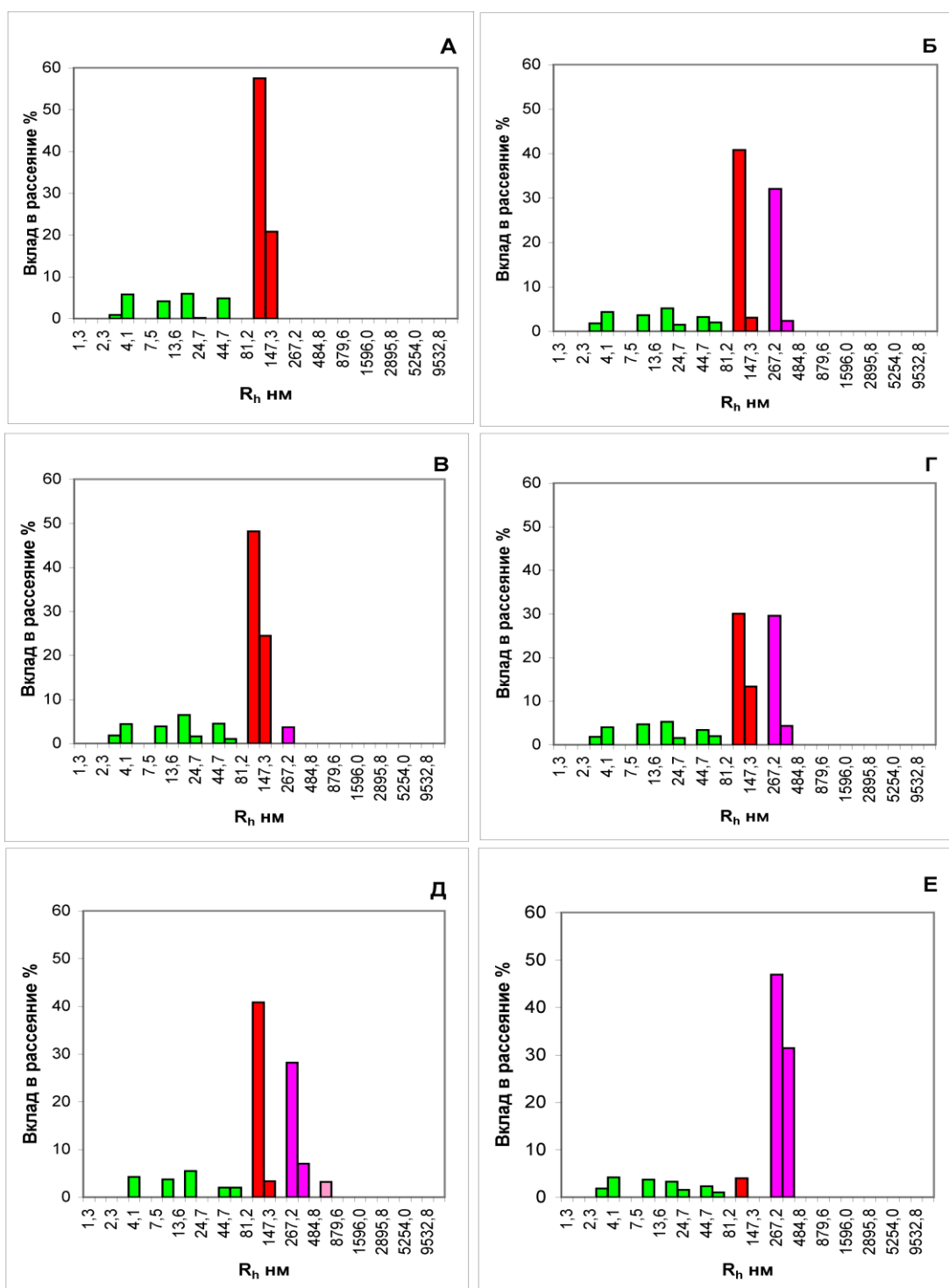


Рисунок 4 – Изотипический состав иммуноглобулинов иммунных комплексов крови здорового донора через 3.5 часа после приема пищи. А – суммарый вклад иммунных комплексов, Б – вклад комплексов изотипа G1, В – вклад комплексов изотипа G3, Г – вклад комплексов изотипа А, Д – вклад комплексов изотипа G1 и G3, Е – вклад комплексов изотипа G1 и А. По оси абсцисс – размер частиц в нм, по оси ординат – вклад в рассеяние в %

Обсуждение результатов. Мы обнаружили, что прием пищи человеком, сопровождается появлением в крови многочисленных макромолекулярных структур, рассеивающих свет с высокой эффективностью. Как следует из представленных нами данных, основная масса высокомолекулярных агрегатов плазмы крови с гидродинамическим радиусом (R_h) превышающим 100 нм, возникающих *de novo* в процессе пищеварения, образована иммуноглобулинами различных изотипов и представляет собой иммунные комплексы (см. рис. 4). Очевидно, что появление иммунных комплексов в крови после приема пищи должно сопровождаться их последующим удалением через клеточную макрофагальную активность, поскольку в противном случае наблюдалось бы их перманентное накопление. Мы проанализировали кинетические характеристики комплексообразования в процессе пищеварения у 10 здоровых мужчин. У всех обследованных доноров

наблюдались сходные временные характеристики появления, накопления и удаления пищевых ИК из кровотока. Достаточно быстро, уже примерно через час после приема пищи количество ЦИК в периферической крови возрастало более чем в 5 раз, достигая своего максимума через 3.5 часа, после чего начинается плавное снижение концентрации пищевых ИК. В дальнейшем концентрация ЦИК в крови, возвращается к исходному состоянию. Таким образом, цикл появления и удаления пищевых иммунных комплексов у человека длится примерно 12 часов.

Учитывая, что грызуны часто используются в качестве лабораторных моделей при исследовании процессов пищеварения, мы сопоставили наличие ЦИК у голодающих в течение 3-х дней крыс с аналогичными показателями сытых животных. Для этих целей анализировались образцы крови из воротной вены и нижней полой вены печени крыс.

Особенности кровоснабжения печени отражают её важную биологическую функцию, состоящую в обезвреживании токсичных соединений, поступивших с пищей либо образовавшихся в кишечнике за счет деятельности микрофлоры. Результаты наших исследований показывают, что пищеварительный процесс у крысы сопровождается появлением в крови, взятой из воротной вены сытого животного, крупных белковых агрегатов с гидродинамическим радиусом (R_h) порядка 200-300 нм, идентифицированных нами как иммунные комплексы. У голодающих в течение 3-х дней крыс в сыворотке крови, взятой из воротной вены, ЦИК практически отсутствуют.

Нижняя полая вена собирает венозную кровь от большей части органов брюшной полости и таза, в том числе отфильтрованную печенью кровь. Сравнивая кровь из воротной вены печени и нижней полой вены, мы можем составить представление об изменениях в составе крови, вследствие детоксикации, осуществляемой печенью. Практически никаких изменений в составе образцов крови голодных крыс мы не зафиксировали. При этом, вклад в рассеяние частиц с гидродинамическим радиусом, соответствующим ИК, у крыс, получавших нормальный пищевой рацион в образце крови, взятом из воротной вены значительно превышает вклад в рассеяние частиц того же размера в образце крови, взятом из нижней полой вены. То есть, образующиеся в процессе пищеварения у крыс ИК, практически сразу с кровотоком попадают в печень, где полностью утилизируются.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что механизмы образования и удаления пищевых ИК у человека и грызунов отличаются. И если у крыс пищевые ИК практически сразу фильтруются в печени, не циркулируя в дальнейшем с кровотоком по организму, то у человека уровень ЦИК в крови нарастает в течение 3.5 часов после приема пищи, после чего достаточно продолжительное время (7-8 часов) происходит постепенная очистка крови от пищевых ИК.

Факт образования в результате приема пищи в плазме крови многочисленных иммунных комплексов достаточно необычен. В идеале, при пищеварении продукты полного эффективного расщепления органических веществ должны легко покидать организм в виде растворимых в воде низкомолекулярных фракций, не засоряя и не перегружая фильтрующие и выделительные системы. Однако на практике это оказывается не так: макромолекулярные структуры, состоящие из фрагментов пищи, обнаруживаются в периферической крови.

Свободный переход крупных органических молекул и/или их блоков в нерасщепленном виде через стенки пищеварительного тракта в кровоток называется транцитозом. В настоящее время это явление широко исследуется в контексте использования в лекарственной терапии для доставки интактных лечебных препаратов в места предназначения [16-18]. Представленные нами данные о нарастании в крови человека ЦИК в процессе пищеварения косвенным образом подтверждают что транцитоз индуцирует местную иммунную реакцию. Пищеварительный тракт обладает рядом барьерных функций, защищающих организм от патогенов, перорально поступающих в организм человека из внешней среды. Местная иммунная система пищеварительного тракта обеспечивает две основные функции: распознавание и индукцию толерантности к пищевым антигенам и блокирующий эффект по отношению к патогенам [19]. Совместные скоординированные действия эпителиальных клеток, иммунореактивных клеток слизистой оболочки, антител и синантропной микробиоты формируют адаптивный иммунный ответ [20].

Оценка изотипического состава образующихся в процессе пищеварения ИК будет способствовать, на наш взгляд, лучшему пониманию молекулярно-клеточных механизмов, обеспечивающих работу местной иммунной системы пищеварительного тракта. Анализ изотипического состава ИК показал, что в процессе пищеварения изотипический состав иммуноглобулинов в ЦИК расширяется. При этом содержание комплексов изотипа А становится преобладающим.

По-видимому, наблюдаемый нами феномен, является отражением особенностей метаболического процесса у человека, сопровождающегося попаданием в кровь относительно крупных молекулярных структур, которые, связываясь антителами, формируют иммунные комплексы значительного размера. Полученные данные косвенным образом указывают на то, что пищеварение у человека сопровождается транцитозом из кишечника в кровь иммунных комплексов, сформировавшихся в пищеварительном тракте в результате активации местной иммунной системы в состав которых входят иммуноглобулины класса А. В дальнейшем, элиминация этих пищевых ИК из кровотока осуществляется традиционным образом. Предположительно, в этом случае мы можем иметь дело с неким альтернативным или дополнительным механизмом пищеварения, который включается при определенных неизвестных пока обстоятельствах.

Список литературы/References:

1. Ohyama K., Kuroda N. Proteomic approaches to profiling the humoral immune response and identifying disease-associated antigens. *Biol Pharm Bull.*, 2012, vol. 35, no. 9, pp. 1409-1412.
2. Ohyama K., Kuroda N. Immune complexome analysis. *Adv Clin Chem.*, 2013, vol. 60, pp. 129-141.
3. Nezlin R. A quantitative approach to the determination of antigen in immune complexes. *J. Immunol. Methods.*, 2000, vol. 237, pp. 1-17.
4. Nielsen C.H., Hegedüs L., Leslie R.G. Autoantibodies in autoimmune thyroid disease promote immune complex formation with self antigens and increase B cell and CD4+ T cell proliferation in response to self antigens. *Eur J Immunol.*, 2004, vol. 34, no. 1, pp. 263-272.
5. Wener M.H. Tests for circulating immune complexes. *Methods Mol Biol.*, 2014, vol. 1134, pp. 47-57.
6. Manivel V.A., Sohrabian A., Wick M.C., Mullazehi M., Hakansson L.D., Rönnelid J. Anti-type II collagen immune complex-induced granulocyte reactivity is associated with joint erosions in RA patients with anti-collagen antibodies. *Arthritis Res Ther.*, 2015, vol. 17, pp. 8.
7. Mibei E.K., Otieno W.O., Orago A.S., Stoute J.A. Distinct pattern of class and subclass antibodies in immune complexes of children with cerebral malaria and severe malarial anaemia. *Parasite Immunol.*, 2008, vol. 30, no. 6-7, pp. 334-341.
8. Pandey M.K. Molecular basis for downregulation of C5a-mediated inflammation by IgG1 immune complexes in allergy and asthma. *Curr Allergy Asthma*, 2013, vol. 13, pp. 596-606.
9. Rai S., Mody R.N. Serum circulating immune complexes as prognostic indicators in premalignant and malignant lesions of oral cavity during and following radiotherapy. *J Cancer Res Ther.*, 2012, vol. 8, suppl. 1, pp. S116-122.
10. Satoskar A.A., Brodsky S.V., Nadasdy G., Bott C., Rovin B., Hebert L., Nadasdy T. Discrepancies in glomerular and tubulointerstitial/vascular immune complex IgG subclasses in lupus nephritis. *Lupus*, 2011, vol. 20, no. 13, pp. 1396-1403.
11. Mayadas T.N., Tsokos G.C., Tsuboi N. Mechanisms of immune complex-mediated neutrophil recruitment and tissue injury. *Circulation.*, 2009, vol. 119, no. 20, pp. 2012-2024.
12. Novak J., Julian B.A., Tomana M., Mestecky J. IgA glycosylation and IgA immune complexes in the pathogenesis of IgA Nephropathy. *Semin Nephrol.*, 2008, vol. 28, no. 1, pp. 78-87.
13. Yasumori R., Hobby P., Williams G., Ohzono Y., Harada T., Hara K. Charge distribution of plasma IgG and IgG immune complexes in IgA nephropathy. *Nihon Jinzo Gakkai Shi.*, 1994, vol. 36, no. 11, pp. 1282-1287.
14. Ланда С.Б., Кораблев П.В., Филатов М.В. Определение иммунных комплексов и их изотипического состава в биологических жидкостях в ответ на предъявление антигенов методом динамического светорассеяния. *Материалы XI международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии». Севастополь. Россия.* 2016, т. 2, с. 163-167. [Landa S.B., Korabliov P.V., Filatov M.V. Determination of immune complexes and their isotype composition in biological fluids by dynamic light scattering in response to the presentation of antigens. *The materials of the XI international scientific-technical conference "Actual problems of biological physics and chemistry". Sevastopol. Russia.* 2016, vol. 2, pp. 163-167. (In Russ.)]
15. Ланда С.Б., Иванов А.В., Комличенко Е.В., Филатов М.В. Регистрация изотипического состава иммунных комплексов как новая диагностическая процедура. *Патогенез*, 2015, т. 13, № 4, с. 51-56. [Landa S.B., Ivanov A.V., Komlichenko E.V., Filatov M.V. Registration of isotype composition of immune complexes as a new diagnostic procedure. *Pathogenesis*, 2015, vol. 13, no. 4, pp. 51-56. (In Russ.)]
16. Lundquist P., Artursson P. Oral absorption of peptides and nanoparticles across the human intestine: Opportunities, limitations and studies in human tissues. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2016, pii: S0169-409X(16)30227-30234.
17. Cai Q., Wang L., Deng G., Liu J., Chen Q., Chen Z. Systemic delivery to central nervous system by engineered PLGA nanoparticles. *Am J Transl Res.*, 2016, vol. 8, no. 2, pp. 749-764.
18. Mehta D., Malik A.B. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev.*, 2006, vol. 86, no. 1, pp. 279-367.
19. Berin M.C. Mucosal antibodies in the regulation of tolerance and allergy to foods. *Semin Immunopathol.*, 2012, vol. 34, no. 5, pp. 633-642.
20. Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W., Bienenstock J., Mc Ghee J.R. *Mucosal Immunology 2nd Ed.* Academic Press, San Diego, 1999, 720 p.