

УДК 615.218.2–065:616–092.19–099]–092.9

ОЦІНКА ІМУНОТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ДЕЗЛОРАТАДИНУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

Т. А. Альохіна
expertiza39@gmail.com

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна

Методи дослідження імунотоксичної дії поллютантів є інформативними навіть тоді, коли жодними іншими тестами несприятливий вплив токсикантів виявити не вдається.

У роботі дана оцінка впливу дезлоратадину (антигістамінного засобу третього покоління) на імунітет лабораторних тварин.

Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих мурчаках світлої масті масою 300–350 г. Сенсibilізацію викликали внутрішньошкірним введенням 200 мкг препарату в зовнішню поверхню вуха.

Після постановки внутрішньошкірних проб змін на шкірі не виявлено. Відсотковий вміст і абсолютна кількість гранулоцитів у тварин контрольної та дослідної груп знаходились у межах інтервалу фізіологічної норми. Вірогідних змін індексів співвідношення лімфоцитів до моноцитів, нейтрофілів до моноцитів, нейтрофілів до еозинофілів не виявлено.

У мурчаків, сенсibilізованих дезлоратадином, фагоцитарна активність достовірно збільшилась (дослід $19,38 \pm 0,50$ %; контроль $14,63 \pm 0,60$ %, $t=6,12$; $P<0,05$), проте фагоцитарний індекс був на рівні контрольної групи (дослід $2,95 \pm 0,17$ %; контроль $3,17 \pm 0,10$ %, $t=1,10$; $P<0,05$). Аналіз кількісних параметрів клітинного адаптивного імунітету в групі порівняння показав наявність помірно виражених змін субпопуляційної структури Т-лімфоцитів. Відмічено підвищення рівня Т-лімфоцитів (CD_3) у відсотках та достовірне підвищення Т-хелперів (CD_4) у відсотках у сенсibilізованих дезлоратадином мурчаків порівняно з контрольною групою. Ці зміни у сукупності зі зростанням фагоцитарної активності можна розглядати як адаптивне реагування імунної системи на введення препарату та відсутність токсичного впливу дезлоратадину на клітинну ланку імунітету.

Визначені індексні показники імунного статусу сенсibilізованих тварин не мали значних розбіжностей відносно контролю. Рівні циркулюючих імунокомплексів та імуноглобулінів у сироватці крові мурчаків у групі порівняння не мали достовірних відмінностей від результатів контрольного дослідження, що свідчить про відсутність впливу дезлоратадину на гуморальну ланку імунітету.

Результати експерименту дають підстави віднести дезлоратадин до речовин, які не мають імунотоксичного ефекту.

Ключові слова: ДЕЗЛОРАТАДИН, ІМУНОТОКСИЧНИЙ ЕФЕКТ, КЛІТИННИЙ ТА ГУМОРАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ

ASSESSMENT OF IMMUNOTOXIC EFFECTS OF DESLORATADINE UNDER THE EXPERIMENTAL CONDITIONS IN LABORATORY ANIMALS

Т. А. Alyokhina
expertiza39@gmail.com

Lviv national university of Danylo Halytsky, Pekarska str., 69, Lviv, 79010, Ukraine

Research methods of immunotoxic effect of pollutants are informative even when other tests are unable to detect adverse effects of toxicant.

The effect of desloratadine (third-generation antihistamine) on the immune system of laboratory animals was assessed in this paper.

Experiments were carried out on adult light-colored guinea pigs weighing 300–350 g. Sensibilization was induced by intradermal injection of 200 micrograms of the drug to the external surface of the ear.

Intradermal test did not cause skin changes. The percentage and absolute number of granulocytes in the control and experimental group were within the boundaries of the interval physiological norm. No

significant changes in the index ratio of lymphocytes to monocytes, neutrophils to monocytes, neutrophils to eosinophils were found.

In guinea pigs sensitized with desloratadine phagocytic activity increased significantly (experiment $19,38 \pm 0,50$ %; control of $14,63 \pm 0,60$ %, $t=6,12$; $P<0.05$), but the value of the phagocytic index was at the level of the control group (experiment $2,95 \pm 0,17$ %; control $3,17 \pm 0,10$ %, $t=1,10$; $P<0.05$). Analysis of the quantitative parameters of cell-mediated adaptive immunity in the experimental group showed the presence of moderately expressed changes in the structure of subpopulation of T-lymphocytes. Rising in percentage T-lymphocytes (CD_4) and a significant percentage increase in T-helper (CD_4) were noted in desloratadine sensitized guinea pigs in comparison with the control group. These changes together with the increase in phagocytic activity could be regarded as an adaptive immune response on administration of the drug and no toxic effect of desloratadine on the cell-mediated immunity.

The resulting index numbers of immune status of sensitized animals had no vast differences compared with the control. Levels of circulating immunoglobulins and immune complexes in the blood serum of guinea pigs in the control group did not differ significantly from that of control group, indicating no effect of desloratadine on the humoral immunity.

The experimental results allow us to classify desloratadine as a substance that does not have immunotoxic effect.

Key words: DESLORATADINE, IMMUNOTOXIC EFFECT, CELL-MEDIATED AND HUMORAL IMMUNITY

ОЦЕНКА ИММУНОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЗЛОРАТАДИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Т. А. Алёхина
expertiza39@gmail.com

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого,
ул. Пекарская, 69, Львов, 79010, Украина

Методы исследования иммунотоксического действия поллютантов являются информативными даже в том случае, когда другими тестами не удается выявить неблагоприятное воздействие токсиканта.

В работе дана оценка влияния дезлоратадина (антигистаминного препарата третьего поколения) на иммунитет лабораторных животных.

Экспериментальные исследования проведены на половозрелых морских свинок светлой масти массой 300–350 г. Сенсибилизацию вызывали путем внутрикожного введения 200 мкг препарата во внешнюю поверхность уха.

При постановке внутрикожных проб изменений на коже не обнаружено. Процентное содержание и абсолютное количество гранулоцитов у животных контрольной и опытной группы находились в границах интервала физиологической нормы. Достоверных изменений индексов соотношения лимфоцитов к моноцитам, нейтрофилов к моноцитам, нейтрофилов к эозинофилам не выявлено.

У морских свинок, сенсибилизированных дезлоратадином, достоверно увеличилась фагоцитарная активность (опыт $19,38 \pm 0,50$ %; контроль $14,63 \pm 0,60$ %, $t=6,12$; $P<0,05$), однако значение фагоцитарного индекса находилось на уровне контрольной группы (опыт $2,95 \pm 0,17$ %; контроль $3,17 \pm 0,10$ %, $t=1,10$; $P<0,05$). Анализ количественных параметров клеточного адаптивного иммунитета в группе сравнения показал наличие умеренно выраженных изменений субпопуляционной структуры Т-лимфоцитов. Отмечено повышение уровня Т-лимфоцитов (CD_4) в процентах и достоверное повышение уровня Т-хелперов (CD_4) в процентах у сенсибилизированных дезлоратадином морских свинок по сравнению с контрольной группой. Эти изменения в совокупности с повышением фагоцитарной активности можно расценивать как адаптивное реагирование иммунной системы на введение препарата и отсутствие токсического влияния дезлоратадина на клеточный иммунитет.

Полученные индексные показатели иммунного статуса сенсибилизированных животных не имели существенных различий по сравнению с контролем. Уровни циркулирующих иммунокомплексов и иммуноглобулинов в сыворотке крови морских свинок в группе сравнения достоверно не отличались от результатов контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии влияния дезлоратадина на гуморальный иммунитет.

Результаты эксперимента позволяют отнести дезлоратадин к веществам, которые не обладают иммунотоксическим эффектом.

Ключевые слова: ДЕЗЛОРАТАДИН, ИММУНОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ, КЛЕТОЧНЫЙ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Порушення функціонування імунної системи — це передумова виникнення патологічних процесів в організмі. Імунна система — високоспеціалізована та складно регульована, її клітинні елементи перебувають у стані постійної проліферації, тому будь-яка токсична дія обов'язково ампліфікується [1]. Методи оцінки імунотоксичної дії поллютантів є інформативними навіть тоді, коли жодними іншими тестами несприятливий вплив токсикантів виявити не вдається [2].

Імунотоксичність ксенобіотиків розглядають у двох аспектах: безпосередня пошкоджуюча дія речовин на імунну систему (імуносупресія) та участь імунної системи в реалізації механізмів їх токсичної дії (аутоімунні реакції, реакції гіперчутливості) [3].

У рамках розробки гігієнічного нормативу допустимого вмісту дезлоратадину (антигістамінного засобу третього покоління) у повітрі робочої зони проведена оцінка впливу препарату на імунітет лабораторних тварин.

Мета досліджень: вивчення імунотоксичної дії дезлоратадину на організм мурчаків.

Матеріали і методи

Експерименти проводили на статевозрілих мурчаків світлої масті масою 300–350 г, які утримувались на стандартному харчовому раціоні в умовах віварію Львівського національного медичного університету згідно з правилами «належної лабораторної практики» (GLP) і дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000).

Методом «випадкових чисел» були сформовані 2 групи тварин (контрольна та дослідна) по 8 особин у кожній. Сенсibilізацію проводили методом внутрішньоскірного введення 200 мкг (в 0,02 мл) препарату в зовнішню поверхню вуха (метод О. Г. Алексєєвої, А. І. Петкевич) [4]. Контрольній групі вводили по 0,02 мл роз-

чинника (фізрозчин). Ступінь сенсibilізації встановлювали після постановки внутрішньоскірних проб в розведеннях: 1:100, 1:1000, 1:10000. Для оцінки реакції організму проводили візуальний огляд поверхні шкіри на місці введення проб через 20–30 хв., 4–5 год. та 24 год. після введення та клінічні й імунологічні тести.

Вивчали зміни показників периферичної крові (лейкоцитів та лейкоцитарну формулу) [5]. На основі лейкоцитарної формули обчислювали співвідношення окремих популяцій лейкоцитів, які можуть бути використані для загальної характеристики клітинних реакцій неспецифічного і специфічного захисту організму. Вираховували такі лейкоцитарні індекси: індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ), індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ) [6].

Оцінку стану неспецифічної резистентності організму проводили за фагоцитарним показником [7].

Стан імунологічної реактивності організму вивчали за абсолютним та відносним вмістом у периферичній крові субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, визначення яких відбувалось проведенням реакції розеткоутворення з еритроцитами, з адсорбованими на них моноклональними антитілами проти рецепторів CD3 (Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери), CD8 (Т-цитотоксичні), CD16 (натуральні кілери), CD22 (В-лімфоцити); та підрахунком величини імунорегуляторного індексу відносно CD4/CD8. Для оцінки імунного статусу тварин використовували такі індексні показники: ЛТІ-лейко-Т-клітинний індекс, ЛВІ-лейко-В-клітинний індекс. Гуморальний імунітет вивчали за вмістом імуноглобулінів А, М, G (IgA, IgM, IgG) та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Вміст імуноглобулінів у сироватці крові визначали за допомогою радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні; циркулюючих імунних комплексів — методом, який ґрунтується на преципітації високоглобулярних імунних

комплексів крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з подальшим вимірюванням результатів спектрофотометричним методом [8].

Отримані дані виражали у відсотках і в абсолютних одиницях у перерахунку на 1 л крові ($10^9/\text{л}$) і піддавали математичній обробці за методами варіаційної статистики.

Результати й обговорення

Постановки внутрішньошкірних проб у дозі 1:10 (розчинник—фізрозчин), 1:100, 1:1000 змін на шкірі не викликали. Відсотковий вміст і абсолютна кількість гранулоцитів (нейтрофілів, еозинофілів та базофілів) у тварин контрольної та дослідної груп були у межах інтервалу фізіологічної норми (Табл. 1).

Таблиця 1

Вплив дезлоратадину на загальну формулу крові мурчаків

Показники	Контрольні тварини	Сенсибілізовані тварини	t
1	2	3	4
Лейкоцити, Г/л	8,97±0,39	9,40±0,91	0,43
Базофіли, %	0,38±0,16	0,75±0,21	1,40
Базофіли, Г/л	0,035±0,013	0,078±0,027	1,40
Еозинофіли, %	2,63±0,38	3,13±0,40	1,00
Еозинофіли, Г/л	0,240±0,038	0,300±0,053	0,90
Нейтрофіли, %	20,00±1,74	20,88±1,08	0,43
Нейтрофіли, Г/л	1,80±0,164	1,97±0,20	0,66
Моноцити, %	2,75±0,45	3,25±0,59	0,68
Моноцити, Г/л	0,240±0,034	0,291±0,045	0,90
Лімфоцити, %	74,25±1,85	72,00±0,88	1,10
Лімфоцити, Г/л	6,70±0,23	6,80±0,62	0,15

Також не виявлено вірогідних змін індексів співвідношення лімфоцитів до моноцитів, нейтрофілів до моноцитів, нейтрофілів до еозинофілів (Табл. 2).

Фагоцитарна активність — важливий механізм раннього захисту організму від різних патогенних факторів, який відіграє значну роль в розвитку імунологічних реакцій

з подальшим формуванням адаптивного імунітету. У мурчаків, сенсибілізованих дезлоратадином, фагоцитарна активність вірогідно збільшилась (дослід 19,38±0,50 %; контроль 14,63±0,60 %, $t=6,12$; $P<0,05$), проте фагоцитарний індекс був на рівні контрольної групи (дослід 2,95±0,17; контроль 3,17±0,10 %, $t=1,10$; $P>0,05$).

Таблиця 2

Величини лейкоцитарних індексів мурчаків, задіяних в експерименті

Назва показників	Значення показників, $M\pm m$		
	Контрольні тварини	Сенсибілізовані тварини	t
ІСЛМ	33,70±6,90	29,26±6,62	0,46
ІСНМ	8,95±1,83	8,87±2,35	0,027
ІСНЕ	8,58±1,18	7,26±0,81	0,92

Аналіз кількісних параметрів клітинного адаптивного імунітету в групі порівняння показав наявність помірно виражених змін субпопуляційної структури Т-лімфоцитів. Відмічено підвищення Т-лімфоцитів (CD_3) у відсотках та достовірне підвищення

Т-хелперів (CD_4) у відсотках у сенсибілізованих дезлоратадином мурчаків порівняно з контрольною групою. Проте абсолютні значення тих самих величин залишались незмінними в обох групах стану клітинної ланки імунітету (Табл. 3).

Таблиця 3

Вплив дезлоратадину на стан клітинної ланки імунітету мурчаків

Назва показників	Значення показників, $M \pm m$		
	Контрольні тварини	Сенсибілізовані тварини	t
Т-лімфоцити — (CD_3), %	51,75±1,82	56,50±1,52	2,00
Т-лімфоцити — (CD_3), Г/л	3,44±0,17	3,88±0,42	0,97
Т-хелпери — (CD_4), %	31,75±1,20	36,50±1,60	2,36
Т-хелпери — (CD_4), Г/л	2,12±0,13	2,53±0,31	1,23
Т-супресори — (CD_8), %	20,00±1,95	19,75±0,82	0,12
Т-супресори — (CD_8), Г/л	1,31±0,16	1,35±0,11	0,21
NK-клітини — (CD_{16}), %	20,13±0,72	20,50±0,65	0,39
NK-клітини — (CD_{16}), Г/л	1,34±0,09	1,39±0,15	0,27
В-лімфоцити — (CD_{22}), %	22,62±1,33	24,37±0,82	1,11
В-лімфоцити — (CD_{22}), Г/л	1,52±0,16	1,66±0,17	0,61
Імунорегуляторний індекс	1,76±0,27	1,88±0,12	0,40

Ці зміни в сукупності з підвищенням фагоцитарної активності можна розглядати як адаптивне реагування імунної системи на зовнішній подразник та відсутність токсичного впливу дезлоратадину на клітинну

ланку імунітету.

Визначені значення індексних показників імунного статусу сенсибілізованих тварин не мали значних розбіжностей відносно контрольної групи (Табл. 4).

Таблиця 4

Індексні показники імунного статусу організму лабораторних тварин

Назва показників	Значення показників, $M \pm m$		
	Контрольні тварини	Сенсибілізовані тварини	t
ЛТІ	2,64±0,10	2,47±0,093	1,23
ЛВІ	6,13±0,43	5,75±0,147	0,84

Рівні циркулюючих імунокомплексів та імуноглобулінів у сироватці крові мурчаків в групі порівняння не мали вірогідних відмінностей від результатів контрольного до-

слідження (Табл. 5).

Ці дані дозволяють зробити висновок про відсутність імунотоксичної дії дезлоратадину на гуморальну ланку імунної системи.

Таблиця 5

Вплив дезлоратадину на стан гуморальної ланки імунітету мурчаків

Назва показників	Значення показників, $M \pm m$		
	Контрольні тварини	Сенсибілізовані тварини	t
Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), ум.од.	28,38±3,72	31,13±4,19	0,49
Імуноглобулін А (IgA), г/л	1,83±0,26	2,22±0,17	1,26
Імуноглобулін М (IgM), г/л	0,20±0,05	0,23±0,03	0,81
Імуноглобулін G (IgG), г/л	4,23±0,30	4,58±0,22	0,93

Висновок

Внутрішньошкірна сенсibiliзація мурчаків дезлоратадином призводить до достовірного збільшення показника клітинного імунітету (Т-хелперів (СД₃) у відсотках) та фагоцитарної активності, що можна інтерпретувати як адаптивне реагування імунної системи на введення препарату. Змін у периферичній крові тварин та в гуморальній ланці імунітету не виявлено. Результати експерименту дозволяють віднести дезлоратадин до речовин, які не мають імунотоксичного ефекту.

Перспективи подальших досліджень.

Розробка гігієнічного нормативу вмісту дезлоратадину в повітрі робочої зони потребує дослідження віддалених наслідків (гонадо-токсичного, мутагенного, ембріотоксичного ефектів) дії препарату та його вплив на організм тварин в умовах хронічного експерименту.

1. Petrov R. V. Immunology and immunogenetics. Moscow, Medicina Publ., 1976, 336 p. (in Russian)

2. Zastenskaya I. A., Chashinskaya T. V., Kochubinsky V. V., Piven N. V., Orlova E. E.,

Luhverchik L. N. Some of the characteristics of the immune system in chronic exposure of bio-accumulative substances. *Actual problems of transport medicine*. 2010, no. 4, pp. 120–123 (in Russian)

3. Kurljandskij B. A., Filova V. A. General toxicology. Moscow, Medicine Publ., 2002, 608 p. (in Russian)

4. Guidelines № 2121–80. Formulation of research on hygienic norms of industrial allergens in the air of the working area. Riga, MZ SSSR, 1980, 20 p. (in Russian)

5. Menshikov V. V., Delektorskaja L. N., Zolotnickaja R. P. Laboratory methods of studies in the clinic. Directory. Moscow, Medicina Publ., 1987, 368 p. (in Russian)

6. Trahtenberg I. M., Dmitruha N. M., Molozhava O. S. Violations of immune status of human organism at the action of chemical factors and methods of their determination. Kyiv, 2007, 48 p. (in Ukrainian)

7. Lapovec L. Je., Lucyk B. D., Lebed G. B., Akimova V. M. Handbook of Laboratory Immunology (3-d edition). Lviv, Taras Soroka Publ., 2008, p. 268. (in Ukrainian)

8. Grinevich Ju. A., Alferov A. N. Determination of immune complexes in the blood of cancer patients. *Laboratory work*. 1981, no 8, pp. 493–495. (in Russian)