

<https://doi.org/10.32782/2786-9067-2023-26-6>

УДК 613.495:615.454.1-099:615.065]-053.2-092.4/.9

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЕРГЕННОЇ ТА ІМУНОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ШАМПУНІВ ТА ГЕЛІВ ДЛЯ ДІТЕЙ

Кузьмінов Б.П., Грушка О.І., Призиглей Г.В., Зазуляк Т.С.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Анотація. Проведено експериментальне дослідження алергенної та імунотоксичної дії шампунів та гелів для купання дітей, виробництва ТОВ “ГАЛВОКС” на мурчаках. Показано, що засоби не володіють алергенною та імунотоксичною дією, проте можуть викликати алергізацію організму дітей з індивідуальною чутливістю. Перкутанна сенсibiliзація засобами викликала у піддослідних мурчаків підсилення фагоцитарної активності нейтрофілів та збільшення кількості лейкоцитів. За результатами алерготестів in vivo відмічено достовірні зміни РСЛЛ, що може свідчити про здатність засобів до індукції реакції гіперчутливості сповільненого типу.

Ключові слова: шампуні та гелі для дітей, алергенна дія, імунотоксична дія, алерготести, реакції гіперчутливості сповільненого типу.

Вступ. Косметичні засоби для догляду за шкірою стали невід’ємною складовою життя сучасної людини і широко використовуються не лише дорослим населенням, а й для догляду за дітьми, починаючи з їх народження. Однак використання таких засобів може призводити до ускладнень, основним з яких є вплив на імунну систему, що проявляється дерматозами та важкими алергічними реакціями [1, 2]. Одним з пояснень активного розвитку цих процесів у дітей є незрілість імунної системи, збільшенням алергенного навантаження під дією побутових чинників та факторів навколишнього середовища, наявність у складі засобів компонентів, які здатні викликати алергічні прояви, що вказує на необхідність приділення особливої уваги вивченню негативного впливу такої продукції саме на дитячий організм [3, 4].

Мета дослідження. Експериментально дослідити алергенну і імунотоксичну дії шампунів для дітей та гелів для купання дітей на прикладі виробів вітчизняного виробника “ГАЛВОКС”.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження алергенних та імунотоксичних властивостей шампуня та гелю проводили на базі ЦНДЛ та лабораторії промислової токсикології ЛНМУ імені Данила Галицького згідно з методичними вказівками “Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы” [5]. В експерименті використано 24 мурчаки-самці білої масті віком 3-3,5 місяці

і масою тіла 280-350 г, які утримувались в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експериментальні тварини отримували стандартний гранульований корм з необмеженим доступом до питної води. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” [6] та “Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах” [7]. Методом “сліпого ранжування” підібрано три підгрупи мурчаків – по 8 тварин у кожній: 1 група – контрольна, 2 група – сенсibiliзована шампунем для дітей, 3 група – сенсibiliзована гелем для купання дітей.

Мурчаків сенсibiliзували за методом О.Г. Алексєєвої, А.І. Петкевич [8] шляхом внутрішньошкірного введення 200 мкг нативних зразків, розведених в 0,02 мл фізіологічного розчину, в шкіру зовнішньої поверхні вуха тварини. Контрольним тваринам вводили по 0,02 мл фізіологічного розчину. Через 10 діб додатково наносили 20 аплікацій з шампунем та гелем для дітей на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба. Реакцію організму оцінювали шляхом візуального огляду поверхні шкіри (діаметр еритеми, наявність та ступінь інфільтрату чи набряку в місці інокуляції) на місці введення проб через 20-30 хв., 4-5 год. та 24 год. після введення та за результатами клінічних і алергологічних тестів.

Вивчали зміни показників периферичної крові (лейкоцити та лейкоцитарна формула) [9], окрім цього для кількісної оцінки сенсibiliзації використовували метод з виявлення реакції клітин крові на алерген “in vitro” – реакцію специфічної агломерації лейкоцитів (РСАЛ) і реакцію специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) [10]. Вказані тести дають можливість виявити алергічну реакцію сповільненого типу.

Стан неспецифічної резистентності організму вивчали за фагоцитарним індексом (ФІ) – відсотком нейтрофілів, які приймають участь у процесі фагоцитозу; фагоцитарним числом (ФЧ) – кількістю часточок полістиролового латексу, поглинутих одним фагоцитом. Для визначення фагоцитарної активності нейтрофілів в лунку пластикової планшетки вносили 0,5 мл крові, 0,5 мл суспензії полістиролового латексу і перемішували. Після 30-хвилинної інкубації при 37 °С пробірки центрифугували. З осаду готували мазки, висушували на повітрі не менше однієї години, фіксували і забарвлювали. Під світловим мікроскопом аналізували 200 нейтрофілів з визначенням відсотка клітин, які вміщують гранули латексу (фагоцитарний індекс) та середню кількість гранул латексу в одному фагоциті (фагоцитарне число) [11].

Стан імунологічної реактивності організму оцінювали за відносним вмістом в периферичній крові субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів за допомогою реакції розеткоутворення з еритроцитами, на яких адсорбовані моноклональні антитіла проти рецепторів CD₃ (Т-

лімфоцити), CD₄ (Т-хелпери), CD₈ (Т-цитотоксичні), CD₁₆ (натуральні кілери), CD₂₂ (В-лімфоцити), а також співвідношення CD₄ / CD₈. Дослідження проводили з використанням діагностикумів еритроцитарних для виявлення популяцій лімфоцитів (виробництва ТОВ НВЛ “Гранум”, Україна, м. Харків).

Гуморальний імунітет вивчали за вмістом імуноглобулінів Е (IgE), А(IgA), М (IgM), G (IgG) та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Вміст імуноглобулінів в сироватці крові визначали на імуноферментному аналізаторі “STAT FAX PLUS– 303” за інструкцією тест-систем, виробництва ТОВ “Лабораторія Гранум”, Україна, циркулюючі імунні комплекси – методом, який ґрунтується на преципітації високоглобулярних імунних комплексів крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з наступним вимірюванням результатів спектрофотометричним методом [12].

Отримані дані виражали у відсотках і в абсолютних одиницях у перерахунку на 1 літр крові (10⁹/л). Достовірність отриманих змін оцінювали з використанням t-критерію Ст’юдента, дані представляли як середнє значення ± довірчий інтервал при довірчому рівні 95 %. Різницю між контрольними та дослідними даними вважали достовірною при p<0,05.

Результати та їх обговорення. У лейкоформулі сенсibiliзованих шампунем та гелем тварин достовірних змін проти контрольною не виявлено (табл. 1). Значення відсоткового вмісту формених елементів крові у сенсibiliзованих тварин достовірно не змінилися; також без змін вміст лейкоцитів у тварин, сенсibiliзованих шампунем. Разом з тим вміст лейкоцитів у тварин, сенсibiliзованих гелем, достовірно збільшився на 35,6% (табл. 1).

Таблиця 1

Показники периферичної крові мурчаків після комбінованої сенсibiliзації шампунем та гелем для купання дітей

Показники	Контроль, М±m	Шампунь для дітей, М±m	t-критерій	Гель для купання дітей, М±m	t-критерій
1	2	3	4	5	6
Лейкоцити, x10 ⁹	14,05±1,85	16,07±1,96	1,74	19,05±2,33	2,38*
Лейкоформула:					
Базофіли, %	0,25±0,146	0,38±0,152	0,62	0,42±0,160	0,80
Базофіли, Г/л	0,036±0,021	0,054±0,038	0,42	0,062±0,043	0,54
Еозинофіли, %	3,75±1,32	4,50±1,52	0,70	4,17±1,47	0,42
Еозинофіли, Г/л	0,44±0,16	0,72±0,24	1,13	0,807±0,34	1,95
Нейтрофіли %	24,5±3,61	25,2±4,3	0,25	21,83±3,97	1,05

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6
Нейтрофіли, Г/л	3,4±0,6	4,0±1,3	0,62	4,17±0,94	0,78
Моноцити, %	3,00±0,63	3,70±1,03	0,68	2,7±0,67	0,33
Моноцити, Г/л	0,42±0,09	0,59±0,19	0,84	0,84±0,38	1,07
Лімфоцити, %	69,0±4,97	66,2±8,7	0,67	68,83±5,12	0,35
Лімфоцити, Г/л	9,7±1,7	10,7±2,10	0,85	13,07±1,34	1,74

* зміни достовірні ($p < 0,05$)

Встановлено, що при сенсibiliзації шампунем показник реакції специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) достовірно збільшився проти контролю на 65,30 %, а при сенсibiliзації гелем для купання – достовірно збільшився на 56,50 %. Показник реакції специфічної агломерації лейкоцитів (РСАЛ) у двох дослідних групах не змінився. Наведені дані вказують на ймовірну алергізацію організму по комплементозалежному типу (табл. 2).

Таблиця 2

Результати алерготестів in vitro мурчаків, сенсibiliзованих шампунем та гелем для купання дітей

Показники	Контроль, М±m	Шампунь для дітей, М±m	t-критерій	Гель для купання дітей, М±m	t-критерій
РСЛЛ, %	8,25±1,9	14,00±2,27	2,4*	13,98±1,58	2,36*
РСАЛ	1,21±0,06	1,36±0,18	1,16	1,38±0,12	1,29

* зміни достовірні ($p < 0,05$)

Серед досліджених показників клітинного імунітету у тварин, сенсibiliзованих шампунем і гелем для купання, достовірних змін проти контрольної групи не виявлено, однак у тварин, сенсibiliзованих шампунем та гелем, спостерігається деяка тенденція до підвищення відсоткового та абсолютного вмісту Т-цитотоксичних клітин та абсолютного вмісту клітин – натуральних кілерів (21% у відносних одиницях та до 64% в абсолютних). Тенденція до зниження імунорегуляторного індексу під впливом шампуню (на 21%) корелює зі змінами вмісту Т-цитотоксичних клітин (СД₈) (табл. 3).

Таблиця 3

Показники клітинного імунітету мурчаків, сенсibilізованих шампунем та гелем для купання дітей

Показники	Контроль, М±m	Шампунь для дітей, М±m	t-критерій	Гель для купання дітей, М±m	t-критерій
CD ₃ , %	51,4±4,5	55,5±2,9	1,58	59,5±4,64	2,05
CD ₃ , Г/л	5,0±0,72	5,94±1,31	0,62	5,28±1,14	0,25
CD ₄ , %	33,5±3,15	31,7±3,14	0,86	36,33±5,54	1,54
CD ₄ , Г/л	3,27±0,46	3,32±0,42	0,34	4,72±0,68	1,92
CD ₈ , %	17,8±2,64	23,8±4,83	1,29	23,17±4,12	1,17
CD ₈ , Г/л	1,75±0,34	2,62±0,94	1,00	3,07±0,83	1,65
CD ₁₆ , %	17,84±3,19	19,0±2,83	0,86	17,50±3,08	1,83
CD ₁₆ , Г/л	1,73±0,37	2,02±0,56	0,45	2,26±0,35	1,06
CD ₂₂ , %	20,8±2,9	21,5±3,08	0,37	21,00±2,37	0,74
CD ₂₂ , Г/л	1,96±0,33	2,32±0,67	0,73	2,74±0,39	1,52
ІРІ (імунорегуляторний індекс)	1,76±0,07	1,39±0,42	0,87	1,62±0,42	0,65

* зміни достовірні (p<0,05)

В гуморальній ланці імунітету дослідних тварин достовірних змін показників проти контролю не відмічено, однак чітко прослідковується тенденція до збільшення кількості ЦІК і в більшій мірі на цей показник впливає сенсibilізація гелем (ріст абсолютного значення на 49,3%) (табл. 4).

Таблиця 4

Показники гуморального імунітету мурчаків, сенсibilізованих шампунем та гелем для купання дітей

Показники	Контроль, М±m	Шампунь для дітей, М±m	t-критерій	Гель для купання дітей, М±m	t-критерій
ЦІК, ум.од.	50,67±11,9	73,5±26,7	1,79	96,33±19,13	2,10
Ig A, г/л	1,1±0,3	1,4±0,1	1,00	1,3±0,77	0,45
IgM, г/л	0,2±0,01	0,208±0,01	0,54	0,211±0,011	0,72
IgG, г/л	7,98±1,1	8,99±1,3	0,68	8,46±1,09	0,30
IgE, г/л	8,0±0,87	10,7±2,03	1,95	10,27±2,37	1,76

* зміни достовірні (p<0,05)

При вивченні впливу дослідних зразків на показники фагоцитарної активності нейтрофілів встановлено достовірне збільшення фагоцитарного числа крові тварин під впливом шампуня (26,0%) (табл. 5).

Таблиця 5

Показники фагоцитарної активності нейтрофілів мурчаків, сенсibilізованих шампунем та гелем для купання дітей

Показники	Контроль, М±m	Шампунь для дітей, М±m	t-критерій	Гель для купання дітей, М±m	t-критерій
Фагоцитарний індекс	13,33±1,21	15,33±3,14	1,5	15,17±4,83	1,27
Фагоцитарне число	3,92±0,43	5,30±1,12	2,9*	4,17±0,78	0,75

* зміни достовірні ($p < 0,05$)

Наведені дані свідчать про ймовірний вплив дослідного зразка шампуню на фагоцитарну систему організму, а саме – на здатність забезпечувати першу лінію захисту неспецифічного клітинного імунітету і здійснювати основну захисну функцію організму – фагоцитоз.

Висновки.

1. Сенсibilізація мурчаків гелем для купання дітей достовірно підвищує вміст лейкоцитів у крові дослідних тварин, показник реакції специфічного лізису лейкоцитів, а також спостерігається тенденція до підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів.

2. Сенсibilізація мурчаків шампунем для дітей не впливає на лейкоцитарну формулу крові дослідних тварин, однак достовірно підвищує показник реакції специфічного лізису лейкоцитів, що може свідчити про здатність засобів до індукції реакції гіперчутливості сповільненого типу. Спостерігається тенденція до пониження імунорегуляторного індексу та до підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів; виявлено реакцію з боку фагоцитарної системи.

3. Результати експериментального дослідження шампунів для дітей та гелів для купання дітей, виробництва ТОВ “ГАЛВОКС” показують, що засоби не володіють алергенною та імунотоксичною дією, проте можуть викликати алергізацію організму дітей з індивідуальною чутливістю, що підтверджує актуальність проведення алерготестів при впровадженні дитячих косметичних засобів для догляду за шкірою у виробництво.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Левицька В.М., Харченко Т.Ф., Ісаєва С.С., Харченко О.А., Хомак С.О., Юрченко Т.В., Зеленська Т.В. Щодо визначення критеріїв безпеки продукції парфюмерно-косметичної промисловості. *Профілактична, регуляторна та експериментальна токсикологія*. 2011. №5. С. 55.
2. Ковальова О.М., Цигульова О.М., Шуміло О.М., Деєва О.О. Безпека косметичних товарів в Україні. Медико-правові аспекти та сучасна кон'юнктура на внутрішньому ринку. Київ: ФОП «Клименко», 2016. 447 с.
3. Митрохин О.В. Гигиенические рекомендации по безопасному и эффективному применению косметических средств. *Здоровье населения и среда обитания*. 2013. №7 (244). С. 4-6.
4. Гацкая Д.О., Корицкая И.В. Динамика распространенности аллергических заболеваний среди молодежи Винницкой области (результаты 1-го этапа эпидемиологического исследования). *Астма та алергія*. 2015. №1. С.17-22.
5. МУ 1.1.578-9:Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы. [Утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 21.10.1996]. Изд. офиц. Москва. 1997. 24 с.
6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg [Internet]. 1986. [cited 2023 April 16]. Available from: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>.
7. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: наказ МОН України від 01.03.2012 № 249. Офіційний вісник України. 2012; 24 : 82.
8. Алексеева О.Г., Дуева Л.А. Аллергия к промышленным соединениям. Москва: Медицина, 1978. 272 с.
9. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. Москва: Медицина, 1987. 364 с.
10. Посібник з лабораторної імунології: Навчальний посібник для лікарів-інтернів закладів (факультетів) післядипломної освіти / Л. Є. Лаповець та ін. Львів, 2008. С. 26-33.
11. Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення: Метод. рекомендації / Укл.: І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, О.С. Моложава та ін. К., 2007. 48 с.
12. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лабораторное дело*. 1981. №8. С. 493-495.

REFERENCES

1. Levytska VM, Kharchenko TF, Isaieva SS, Kharchenko OA, Khomak SO, Yurchenko TV, Zelenska TV. Regarding the definition of safety criteria for the products of the perfumery and cosmetics industry, *Profilaktychna, rehuliatorna ta eksperymentalna toksykologhiia*. 2011;5:55 [in Ukrainian].
2. Kovalova OM, Tsyhulova OM, Shumilo OM, Dieieva OO. (2016), *Bezpeka kosmetychnykh tovariv v Ukraini. Medyko-pravovi aspekty ta suchasna koniunktura na vnutrishnomu rynku* [Safety of cosmetic products in Ukraine. Medico-legal aspects and the current situation in the domestic market], FOP «Klymenko», Kyiv, Ukraine [in Ukrainian].
3. Mitrokhin OV. Hygienic recommendations for the safe and effective use of cosmetics. *Public health and habitat. Zdorove naseleniia y sreda obytaniia*. 2013; 7(244): 4-6 [in Russian].
4. Gatskaya DO, Koritskaya IV. Dynamics of the prevalence of allergic diseases among young people in the Vinnitsa region (results of the 1st stage of the epidemiological study). *Astma ta alerhiia* 2015;1:17-22 [in Ukrainian].
5. Metodicheskiye ukazaniya (1997) № 1.1.578-9: Trebovaniya k postanovke eksperimental'nykh issledovaniy po obosnovaniyu predel'nodopustimyykh kontsentratsiy promyshlennykh khimicheskikh allergenov v vozdukhie rabochey zony I atmosfery. [MU 1.1.578-9: Requirements for setting up experimental studies to substantiate the maximum permissible concentrations of industrial chemical allergens in the air of the working area and atmosphere], Moscow, USSR. (Approved. State Committee for Sanitary and Epidemiological Supervision of the Russian Federation on 21.10.1996) [in Russian].
6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg [Internet]. 1986. [cited 2023 April 16]. Available from: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>.
7. Order of the Ministry of Education, Science, Youth and Sports of Ukraine (2012), № 249: Poryadok provedennya naukovykh ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh [No 249: The procedure for conducting scientific experiments, experiments on animals], *Official Bulletin of Ukraine*, № 24, p. 82 [in Ukrainian].
8. Alekseyeva OG, Duyeve LA. *Allergiya k promyshlennym soyedineniyam* [Allergy to industrial compounds], Medicine, Moscow, 1978. [in Russian].
9. Men'shikov VV, Delektorskaya LN, Zolotnitskaya RP. *idr. Laboratornyye metod yssledovaniya v klinike: Spravochnik* [Laboratory research methods in the clinic: a Handbook], Medicine, Moscow 1987. [in USSR].
10. Romanyshyn YAM, Temnyk IV, Lapovets' LYE. ta in. *Metodychni rekomendatsiyi dlya otsink yimunnoho statusu lyudyny: kliniko-laboratorna diahnozyka alerhichnykh zakhvoryuvan'*,

typuvannya leykotsytiv, otsinka imunohramy: metodychni rekomendatsiy [Methodical recommendations for assessing the immune status of people: clinical and laboratory diagnostics of allergic diseases, typing of leukocytes, assessment of immunograms: method. Recommendations], Lviv, 1999. [in Ukrainian].

11. Trakhtenberh IM, Dmytrukha NM. ta in. Porushennya immunoho statusu orhanizmu lyudyny za diyi khimichnykh chynnykiv ta metody yikh vyznachennya. Metodychni rekomendatsiyi [Violation of the immune status of the human body due to chemical factors and methods for their determination. Guidelines], Kyiv, 2007. [in Ukrainian].

12. Grinevich YuA., Alferov AN. Determination of immune complexes in the blood of cancer patients. Laboratorno edelo. 1981; 8:493-495 [in Ukrainian].

EXPERIMENTAL STUDY OF ALLERGENIC AND IMMUNOTOXIC EFFECTS OF SHAMPOOS AND GELS FOR CHILDREN

Kuzminov B.P., Hrushka O.I., Pryzyhlei H.V, Zazulyak T.S.

Abstract. An experimental study of the allergenic and immunotoxic effect of shampoos and gels for bathing children of the Ukrainian manufacturer GALVOX LLC on guinea pigs was conducted. The obtained results make it possible to classify these cosmetics as those that do not have an allergenic and immunotoxic effect, but can cause an allergic reaction of the body, taking into account individual sensitivity. Percutaneous sensitization by these means caused an increase in the phagocytic activity of neutrophils and an increase in the number of leukocytes in test ants. Also, among allergotests in vivo, reliable changes in RSSL were noted, which may indicate the ability of the drug to induce a delayed-type hypersensitivity reaction.

Key words: shampoos and gels for children, allergenic effect, immunotoxic effect, allergy tests, delayed hypersensitivity reactions.

Кузьмінов Борис ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8693-1046>)

Грушка Оксана ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1874-5281>

Призиглей Ганна ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2939-4595>

Зазуляк Тетяна Степанівна ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5896-0475>, +38 0502094871, tetyanazazulyak@gmail.com

Надійшла до редакції / Receiv: 25.03.2023