

K. Weller, M. Maurer

Департамент дерматології та алергії,
Центр алергії в Шаріте, Університетська клініка Шаріте,
Берлін, Німеччина

Дезлоратадин пригнічує активацію людських тучних клітин шкіри та вивільнення гістаміну*

Більшість симптомів алергічних хвороб зумовлені активацією тучних клітин (ТК) та подальшим вивільненням медіаторів, особливо гістаміну [7, 8]. Дослідженнями показано, що попередньо утворений гістамін міститься у значній кількості в гранулах шкірних ТК [7].

На сьогодні найпоширенішим методом лікування ТК-асоційованих хвороб, зокрема алергічного риніту чи кропивниці, є призначення антигістамінних засобів [9]. Засоби, що пригнічують активацію ТК та вивільнення запальних медіаторів (наприклад, гістаміну) і мають назву стабілізаторів ТК, здатні додатково сприяти поліпшенню при таких станах [10]. Стосовно шкіри стабілізатори ТК для тривалого лікування потребують доказовості у застосуванні. Заслужують на увагу останні повідомлення, які доводять, що деякі з антиалергічних ефектів антигістамінних засобів другого покоління (неседативних), наприклад, дезлоратадин, можуть бути наслідком ТК-стабілізуючих властивостей [5, 10, 11]. Дезлоратадин продемонстрував пригнічення гістаміну, алергічної та запальної відповіді у мишей та в дослідженнях *in vitro* [1]. Та оскільки пригнічувального впливу на активацію ТК шкіри і вивільнення медіаторів не було досліджено детально, переконливих даних щодо можливого ТК-стабілізуючого впливу на алергічну активацію ТК недостатньо [3], а інформація про вплив на неалергічну активацію нормальних людських ТК також неповна. Це дослідження мало за мету з'ясувати, чи пригнічує дезлоратадин активацію людських ТК у шкірі та подальше вивільнення медіаторів, чи дозозалежні ці властивості (якщо вони є), а також чи обмежено пригнічення специфічними стимуляторами.

ТК брали з людської шкіри методом косметичної хірургії, на що донори давали письмову інформовану згоду. Дослідження проведено відповідно до Гельсінкської декларації та затверджено інститутською наглядовою радою Університетської клініки Шаріте (Берлін, Німеччина).

Очищення клітин досягали інкубацією з CD117 магнітними намістинами та подальшою сепарацією мічених від немічених клітин пропусканням їх крізь систему AutoMACS (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Німеччина). Ізольовані та очищені людські шкірні ТК преінкубовували протягом 60 хв із 200 мкл суміші (PIPES альбумін-глюкоза з кальцієм та магнієм; Sigma-Aldrich, Мюнхен, Німеччина) або дезлоратадину в концентрації від 10^{-8} до 10^{-4} моль/л. Усі ТК було потім стимульовано протягом 30 хв 400 мкл дезлоратадину чи суміші з вмістом (кінцеві концентрації) анти-IgE (0,67 мкг/мл), кальцію-іонофору (0,2 мкмоль/л), або речовини P (30 мкмоль/л), після чого зафіксовано експресію CD107a та визначено вивільнення гістаміну. Дослідження підтвердило, що CD107a, також відомий як лізосомально-асоційований мембранний протеїн 1, є досі невідомим маркером активації ТК та дегрануляції [4]. Під час проточної цитометрії нормальних, спокійних людських шкірних ТК CD107a виробляють лише в незначній кількості клітинні поверхні. Після стимуляції анти-IgE, кальцій-іонофором чи речовиною P внутрішньоклітинний CD107a швидко переміщується до клітинної мембрани, і його вироблення можна легко виявити сортувальним аналізом флуорисцентно-активованих клітин з використанням анти-CD107a антитіл.

Статистичний аналіз цього дослідження ґрунтується на двовибірковому t-критерії Стьюдента для незалежних сукупностей. Результати

* Реферат статті. Journal of Investigative Dermatology, online publication, 11 June 2009; doi:10.1038/jid.2009.134.

аналізу продемонстрували, що дезлоратадин значущо пригнічує експресію CD107a на ТК людської шкіри після стимуляції кожною з трьох субстанцій (рис. 1). За найвищої концентрації дезлоратадину пригнічувальний ефект був найсильнішим у відповідь на стимуляцію анти-IgE (50,7 % пригнічення; $p < 0,05$), потім — речовиною Р (48,0 % пригнічення; $p < 0,005$) та кальцій-іонофором (26,7 % пригнічення; $p < 0,01$).

Кількість CD107a-позитивних клітин у співвідношенні до загальної кількості клітин після стимуляції (прийнятої за 100 %) становила 50,1; 61,3 та 59,8 % для анти-IgE, речовини Р та кальцій-іонофору відповідно. Пригнічувальна дія дезлоратадину була дозозалежною для всіх трьох тестових субстанцій. Дезлоратадин також вірогідно пригнічував вивільнення гістаміну людськими ТК шкіри після стимулювання кожною із трьох тестових субстанцій (рис. 2). За найвищої концентрації дезлоратадину пригнічувальний ефект був найсильнішим у відповідь на стимуляцію речовиною Р (53,7 % пригнічення; $p < 0,01$), далі — анти-IgE (42,6 % пригнічення; $p < 0,005$) та кальцій-іонофором (39,9 % пригнічення; $p < 0,005$). Вивільнення гістаміну, індуковане речовиною Р, вірогідно пригнічувалося концентраціями дезлоратадину 10^{-6} та 10^{-8} моль/л (9,8 і 13,0 % пригнічення, відповідно $p < 0,005$ для обох). Абсолютне вивільнення гістаміну щодо загальноклітинного вмісту гістаміну після стимуляції (взято за 100 %) становило 21,8; 49,2 та 60,9 % для анти-IgE, речовини Р та кальцій-іонофору відповідно.

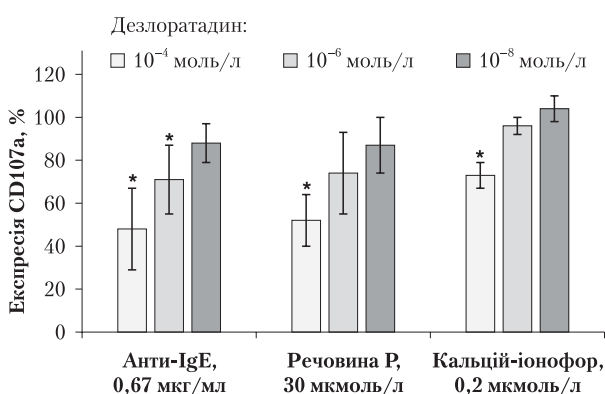


Рис. 1. Вплив дезлоратадину на експресію CD107a людськими ТК шкіри після стимуляції анти-IgE, речовиною Р та кальцій-іонофором. Експресію CD107a після стимуляції попередньо оброблених клітин кожною окремою тестовою субстанцією обчислено як відсоток (значення \pm стандартна похибка) вивільнення без попереднього оброблення дезлоратадином (взято за 100 %) Результати 3—4 незалежних дослідів

* $p < 0,05$ порівняно зі 100 % стимуляцією кожною тестовою субстанцією без дезлоратадину.

Під час інкубації ТК з дезлоратадином не спостерігалось жодної цитотоксичності за будь-якої концентрації ліків. На підставі цих даних зроблено висновок, що преінкубація з дезлоратадином вірогідно пригнічує експресію маркера ТК-активації, CD107a, так само як подальше вивільнення гістаміну, в первинних людських шкірних ТК. Крім того, впливи дезлоратадину не обмежуються IgE-залежною стимуляцією, але також поширюються IgE-незалежними шляхами, як через кальцій-іонофор та субстанцію Р. Однак дезлоратадин може бути визначений як ефективний стабілізатор ТК *in vitro*. Цей ефект загалом дозозалежний, причому вищі дози дезлоратадину демонструють потужніші пригнічувальні впливи. Один із можливих механізмів, через який дезлоратадин може чинити пригнічувальний вплив на ТК, це інтерференція або з внутрішньоклітинним накопиченням кальцію, або з активацією внутрішньоклітинних кальційзалежних ферментів, наприклад, кальмодуліну.

Результати дослідження збігаються з більш ранніми звітами, які вказують, що вивільнення фактора некрозу пухлин людських лейкоцитних ТК, стимульованих форболміристатацетатом або кальцій-іонофором, пригнічуються дозозалежно антигістамінами азеластином, цетиризином чи лоратадином у концентраціях, яких, на думку авторів, можна легко досягти терапевтично у тканині [6]. Хоча даних щодо концентрації у шкірі дезлоратадину у випадках рекомендованого дозування мало, в одному дослідженні продемон-

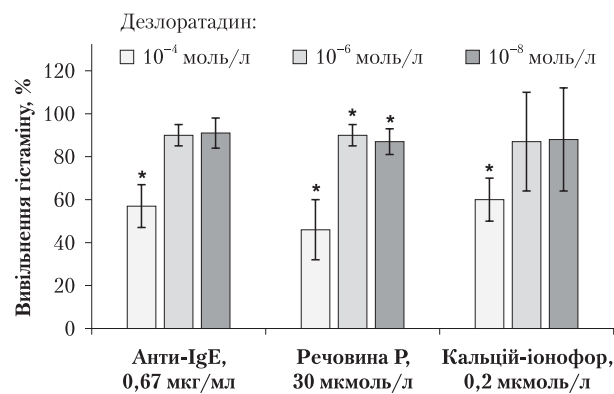


Рис. 2. Вплив дезлоратадину на вивільнення гістаміну людськими ТК шкіри після стимуляції анти-IgE, речовиною Р та кальцій-іонофором. Вивільнення гістаміну після стимуляції попередньо оброблених клітин кожною окремою тестовою субстанцією обчислено як відсоток (значення \pm стандартна похибка) вивільнення без попереднього оброблення дезлоратадином (взято за 100 %) Результати 3—4 незалежних дослідів

* $p < 0,05$ порівняно зі 100 % стимуляцією кожною тестовою субстанцією без дезлоратадину.

стровано, що концентрації у шкірі через 24 год після одноразового перорального прийому 5 мг дезлоратадину наблизилися до таких, що викликали достовірну стабілізацію ТК у цьому дослідженні [2]. Подальше вивчення переконливо

підтвердило залучення клітинних шляхів дезлоратадиніндукованого пригнічення експресії CD107a та вивільнення гістаміну, а також досягнення клінічного ефекту такого пригнічення на ТК-опосередковані хвороби шкіри.

Підготував В.В. Короленко

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Список літератури

1. Baena-Cagnani C.E. Desloratadine activity in concurrent seasonal allergic rhinitis and asthma // *Allergy*.— 2001.— 56 (suppl. 65).— P. 21–27.
2. Frossard N., Strolin-Benedetti M., Purohit A., Pauli G. Inhibition of allergen-induced wheal and flare reactions by levocetirizine and desloratadine // *Br. J. Clin. Pharmacol.*— 2008.— 65.— P. 172–179.
3. Genovese A., Patella V., De Crescenzo G. et al. Loratadine and desethoxycarbonyl-loratadine inhibit the immunological release of mediators from human Fc epsilon RI+ cells // *Clin. Exp. Allergy*.— 1997.— 27.— P. 559–567.
4. Grutzkau A., Smorodchenko A., Lippert U. et al. LAMP-1 and LAMP-2, but not LAMP-3, are reliable markers for activation-induced secretion of human mast cells // *Cytometry*.— 2004.— A 61.— P. 62–68.
5. Kowalski M.L., Lewandowska A., Wozniak J. et al. Inhibition of nasal polyp mast cell and eosinophil activation by desloratadine // *Allergy*.— 2005.— 60.— P. 80–85.
6. Lippert U., Moller A., Welker P. et al. Inhibition of cytokine secretion from human leukemic mast cells and basophils by H1- and H2-receptor antagonists // *Exp. Dermatol.*— 2000.— 9.— P. 118–124.
7. Metz M., Maurer M. Mast cells — key effector cells in immune responses // *Trends Immunol.*— 2007.— 28.— P. 234–241.
8. Metz M., Siebenhaar F., Maurer M. Mast cell functions in the innate skin immune system // *Immunobiology*.— 2008.— 213.— P. 251–260.
9. Mlynek A., Maurer M., Zalewska A. Update on chronic urticaria: focusing on mechanisms // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*— 2008.— 8.— P. 433–437.
10. Wang Y.H., Tache Y., Harris A.G. et al. Desloratadine prevents compound 48/80-induced mast cell degranulation: visualization using a vital fluorescent dye technique // *Allergy*.— 2005.— 60.— P. 117–124.
11. Zhao Y., Leung P.C., Woo K.S. et al. Inhibitory effects of budesonide, desloratadine and dexamethasone on cytokine release from human mast cell line (HMC-1) // *Inflamm. Res.*— 2004.— 53.— P. 664–669.