

UDK 37

ISSN 2545 - 4439  
ISSN 1857 - 923X

# INTERNATIONAL JOURNAL

Institute of Knowledge Management

# KNOWLEDGE



**Scientific Papers**

Vol. 31. 4.

**MEDICAL SCIENCES AND HEALTH**



**KIJ**

**Vol. 31**

**No. 4**

**pp. 811 - 1198**

**Skopje 2019**

Global Impact & Quality Factor 1.822 (2107) <http://globalimpactfactor.com/knowledge-international-journal/>

DYABETTE CONTROL PROGRAM AND PREVENTION OF THEIR CONDITIONS - PROPOSALS AND GUIDELINES .....	959
Varvara Pancheva.....	959
Valentin Vassilev.....	959
ALGORITHM OF COMPLEX PROGRAM FOR TREATMENT AND REHABILITATION IN DEGENERATIVE DISEASES OF THE VERTEBRAL COLUMN IN THE CERVICAL AREA. PREVENTION OF CERVICAL ARTHROPATHY .....	963
Petya Kasnakova.....	963
THE DIAGNOSIS OF DAUCUS CAROTA AS ALERGOGEN ON THE IMMUNE SYSTEM IN WHITE LABORATORY RAT .....	969
Mire Spasov.....	969
Icko Gjorgoski .....	969
THE DIAGNOSIS OF PHLEUM PRATENSE AS ALERGOGEN ON THE IMMUNE SYSTEM IN WHITE LABORATORY RAT .....	975
Hristijan Spasov.....	975
Mire Spasov.....	975
Icko Gjorgoski .....	975
Majlinda Ademi.....	975
INCREASED MEASLES MORBIDITY AND PUBLIC AWARENESS OF THE RISKS OF REFUSING IMMUNIZATION FOR THIS DISEASE .....	981
Ivelina Dobрева .....	981
Pavlina Teneva .....	981
Tsvetana Bojkova .....	981
PERSPECTIVES IN HEALTH CARE FOR CHILDREN WITH SPECIAL NEEDS IN CHILDREN'S AND SCHOOL HEALTH.....	985
Monika Obreykova .....	985
Galina Terzieva.....	985
MYOPIA IN PRE-SCHOOL CHILDREN AND MOBILE PHONES .....	991
Aleksandar Dodevski.....	991
Strahil Gazepov .....	991
Biljana Dodevska.....	991
Alen Georgijev .....	991
VISUAL SCREENING OF SCHOOL CHILDREN IN THE MUNICIPALITY OF SAPAREVA BANYA IN SOUTHWESTERN BULGARIA.....	995
Slavena Stoykova .....	995
Ekaterina Petrova.....	995
WETTABILITY – ANOTHER PARAMETER FOR GOOD FITTING OF A SILICONE-HYDROGEL DAILY DISPOSABLE CONTACT LENS .....	1001
Nikola Peev .....	1001
SUCCESSFUL COGNITIVE AGING - COGNITIVE RESERVE AND NEUROPLASTICITY .....	1005
Antonia Yaneva .....	1005
Kristina Kilova .....	1005
Teodora Dimcheva .....	1005
THE ROLE OF ACUPUNCTURE IN THE REHABILITATION OF PARALYSIS OF N.FACIALIS .....	1009
Lence Nikolovska.....	1009
Stefanija Gjorgieva.....	1009
Mire Spasov.....	1009

---

---

**THE DIAGNOSIS OF DAUCUS CAROTA AS ALERGOGEN ON THE IMMUNE SYSTEM IN WHITE LABORATORY RAT**

**Mire Spasov**

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

**Icko Gjorgoski**

Faculty of Natural Sciences and Mathematics, University „St. Cyril and Methodius“ - Skopje, Republic of North Macedonia, icko.gjorgoski@gmail.com

**Abstract:** The allergic reaction or type I hypersensitivity is a hypersensitive disorder to the immune system, which occurs by ingress of non-pathogenic agents from the external environment in the body. Antigens, in this case allergens, are substances from the environment that are harmless to most people. In allergies there is an inherent tendency to inherit the genes that make these people susceptible to allergies. Rapid sensitization may occur as a local reaction, which is just unpleasant (seasonal rhinitis or hay fever), severe exhaustion (asthma), or culminating in a fatal systemic disorder (anaphylaxis). Allergens in the body are inserted by inhalation, ingestion or injection, and move to mucous membranes, where they are accepted by T-lymphocytes. TN2 lymphocytes produce IL-4, which stimulate B-lymphocytes to differentiate into plasma cells. These cells excrete IgE, which recognize allergens. Excreted IgE antibodies sensitize mast cells that originate from the bone marrow. When sensitized individuals again expose themselves to an allergen from the external environment, they bind to specific IgE-antibodies to the mast cells (memory cells), whereby various mediators are excreted, causing inflammatory response, mucus secretion, vasoconstriction of blood vessels, and spasm of the airways.

The aim of the study was to investigate the allergenic effect of *Daucus carotte* on the change in the number of leukocytes, lymphocytes, monocytes, granulocytes, basophils, and immunoglobulins as important components of the immune system. From the pollen of this plant, recombinant allergen is extracted, in the form of injections with a volume of 150µl. In the experiments, as experimental models were used Wistar white rats at the age of 6 to 9 weeks. We injected the allergen into the first, second, third and fourth week in a group of 6 rats in an amount of 5 µl and a second group of 6 rats in an amount of 2.5 µl allergen absorbed in 100 µl AI (OH) 3 (Serva, Heidelberg, Germany, 2 µg / ml) in a total volume of 150µl sterile PbS. The third group of 6 rats was a control group. The results showed that the *Daucus carota* causes an allergic reaction in Wistar white rats and its intensity depends directly on the volume of the allergen and the individuals that come into contact with it. Once we compared the values of blood parameters, leukocytes, lymphocytes, monocytes, granulocytes, and basophils, as well as the IgG, IgG1, IgG2a, and IgE IgG, IgG1, IgG2a, and IgE concentrations, we concluded that the higher concentration of *Daucus carota* causes a higher elevation in blood parameters and concentrations of immunoglobulins, compared to the smaller concentration of the same allergen.

From the studies conducted over a period of one month, it was found that *Daucus carota* causes an allergic reaction, which is classified in Type I hypersensitivity in white laboratory rats of the Wistar strain.

**Keywords:** allergens, *Daucus carota*, lymphocytes, basophils, immunoglobulins.

**ВЛИЈАНИЕТО НА DAUCUS CAROTA КАКО АЛЕРГЕН ВРЗ ИМУНИОТ СИСТЕМ  
КАЈ БЕЛИОТ ЛАБОРАТОРИСКИ СТАОРЕЦ**

**Мире Спасов**

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

**Ичко Ѓорѓоски**

Природно-математички факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје, Република  
Северна Македонија, icko.gjorgoski@gmail.com

**Резиме:** Алергиската реакција или хиперсензитивноста од тип I претставува преосетливо нарушување на имуниот систем, кое се јавува со навлегување на непатогени агенси од надворешната средина во организмот. Антигените, во овој случај алергени, се супстанции од околината кои се безопасни за повеќето луѓе. Кај

алергиите постои вродена склоност за наследување на гени, кои овие луѓе ги прават подложни на алергии. Брзата пречувствителност може да се јави како локална реакција, која е само непријатна (сезонски ринитис или поленска треска), тешко исцрпувачка (астма) или да кулминира со фатално системско пореметување (анафилаксија). Алергените во организмот се внесуваат со вдишување, проголтување или ињектирање и се движат кон мукозните мембрани, каде се прифаќаат од страна на Т-лимфоцитите. ТН2 лимфоцитите создаваат ИЛ-4, кој ги стимулираат Б-лимфоцитите да се диференцираат во плазма клетки. Овие клетки излучуваат IgE, кои ги препознаваат алергените. Излучените IgE-антитела ги сензибилизираат маст-клетките, кои потекнуваат од коскената срцевина. Кога сензибилизираните лица повторно ќе се изложат на алергенот од надворешната средина, тие се сврзуваат за специфичните IgE-антитела на маст-клетките (мемориски клетки) при што се излучуваат разни медијатори, кои предизвикуваат воспалителна реакција, излучување на слуз, вазоконстрикција на крвните садови и спазам на дишните патишта.

Целта на истражувањето беше да се испита алергеното дејство на *Daucus carota* врз промената во бројот на леукоцитите, лимфоцитите, моноцитите, гранулоцитите, базофилите и имуноглобулините, како значајни компоненти на имуниот систем. Од поленот на ова растение се екстактира рекомбинантен алерген, во вид на инекции со волумен од 150µl. Во испитувањата како експериментални модели, беа користени бели лабораториски стаорци од сојот Wistar на возраст од 6 до 9 недели. Алергенот го инектираа на првата, втората, третата и четвртата недела кај група од 6 стаорци во количина од 5µl и втора група од 6 стаорци во количина од 2,5µl алерген апсорбиран во 100µl Al(OH)<sub>3</sub> (Serva, Heidelberg, Germany, 2µg/ml), во вкупен волумен од 150µl стерилан PbS. Третата група од 6 стаорци беше контролна група. Резултатите покажаа дека *Daucus carota* предизвикува алергиска реакција кај белите лабораториски стаорци од сојот Wistar, а нејзиниот интензитет директно зависи од волуменот на алергенот и од индивидуите кои доаѓаат во контакт со истиот. Откако ги споредивме вредностите за крвните параметри, леукоцити, лимфоцити, моноцити, гранулоцити и базофили, како и концентрациите на имуноглобулините IgG, IgG1, IgG2a и IgE во серумите, заклучивме дека поголемата концентрација на *Daucus carota* предизвикува поголемо покачување на вредностите за крвните параметри и концентрациите на имуноглобулините, во споредба со помалата концентрација од истиот алерген.

Од испитувањата спроведени во период од еден месец се утврди дека *Daucus carota* предизвикува алергиска реакција, која се класифицира во тип I хиперсензитивност кај белите лабораториски стаорци од сојот Wistar. **Клучни зборови:** алергени, *Daucus carota*, лимфоцити, базофили, имуноглобулини.

## 1. ВОВЕД

Хиперсензитивноста тип I е ткивна реакција наречена брза пречувствителност, која се јавува после неколку минути од раегирањето на антигенот со IgE-антителото, кај сензибилизираниот домакин [4]. Алергените во организмот се внесуваат со вдишување, голтање или ињектирање движејќи се кон мукозните мембрани, каде се прифаќаат од страна на Т-лимфоцитите [7]. Тие препознаваат само пептидни фрагменти од протеинските антигени прикажани на други клетки кои поседуваат МСН. ТН1-клетките прикажуваат гликопротеински CD4-молекули, кои делуваат како корецептори за овие поврзани пептиди на МСН-комплексот од класата II на дендритските клетки, при што излучуваат ИЛ-2, со стимулација на пролиферацијата на Т-лимфоцитите или лачење на цитокини, како TNF фактор, кој ги активира макрофагите [6]. На површината на мембраната Б-лимфоцитите прикажуваат молекули-рецептори CD40, кои се сврзуваат за својот лиганд на ТН2 лимфоцитите, кои создаваат ИЛ-4 и ги стимулираат Б-лимфоцитите да се диференцираат во плазма клетки. Нивото на IgE при алергиските реакции е зголемено. Истите прикажуваат рецептор со висок афинитет за FC-делот од тешкиот синцир на IgE-антителата [2]. Кога сензибилизираните лица повторно ќе се изложат на алергенот од надворешната средина, тие се сврзуваат за специфичните IgE-антитела на маст-клетките. Првата фаза од овие алергиски реакции се јавува 5-30 минути од навлегувањето на алергенот и се повлекува по околу 60 минути [1]. Втората фаза почнува 2-8 часа подоцна и трае неколку дена со настанување на воспаление во кое преовладуваат неутрофили, еозинофили и лимфоцити, при што, може да дојде до оштетување на ткивата [5]. Локализираната реакција на пречувствителност од тип I е генетски контролирана, преку наследување на одредени HLA-алели на хромозомите кои ги кодираат МСН-комплексите [3].

## 2. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Целта на истражувањето произлезе од претпоставката дека кај белиот лабораториски стаорец третиран со алерген изолиран од поленот на растението *Daucus carota* може да доведе до алергиска реакција, а со тоа и до промена на параметрите од имуниот систем како, вкупен број на леукоцити, зголемен број на базофили, лимфоцити, гранулоцити, моноцити и варијација во концентрацијата на имуноглобулините во крвта.

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

*Daucus carota* припаѓа на фамилијата *Ariaceae*. Од ова растение се екстахира рекомбинантен алерген, во вид на инекции со волумен од 150 $\mu$ l. Во испитувањата беа користени бели лабораториски стаорци од сојот Wistar на возраст од 6 до 9 недели кога кај нив се развиени клетки од типот TH2, вклучени во имуниот одговор. Алергенот го инектираше на првата, втората, третата и четвртата недела кај група од 6 стаорци во количина од 5 $\mu$ l и втора група од 6 стаорци во количина од 2,5 $\mu$ l алерген апсорбиран во 100 $\mu$ l Al(OH)<sub>3</sub> (Serva, Heidelberg, Germany, 2 $\mu$ g/ml), во вкупен волумен од 150 $\mu$ l стерилан PbS. Третата група од 6 стаорци беше контролна група. После секое инектирање на алергенот се земаше крв од опашката на стаорците во епендорф епрувети без антикоагуланс. Серум се добиваше со центрифугирање на примероците 20 минути на 5000 вртежи во минута. За хематолошките анализи користевме антикоагуланс. Анализите беа работени при Клинички центар во Скопје. За испитување на имуноглобулините се користеа ELISA тестовите на хемилуминисцентниот анализатор Immulite. За испитување на останатите параметри се користеше хематолошки бројач Humaп. Беше изработувана и крвна размаска боена по Gimza, а на микроскоп според леукоцитарната формула се броеја оделните видови на леукоцити.

### 4. РЕЗУЛТАТИ

Влијанието на *D.Carota* и *P.Pratense* врз имуниот систем кај лабораториски стаорец

Резултати добиени од имунизација со алергенот *Daucus Carota*

4.1. Графички приказ и споредба на резултатите добиени од имунизацијата на стаорците со двата волумена; 5 $\mu$ l (I) и 2,5 $\mu$ l (II) на алергенот *Daucus carota*, со резултатите од контролните стаорци:

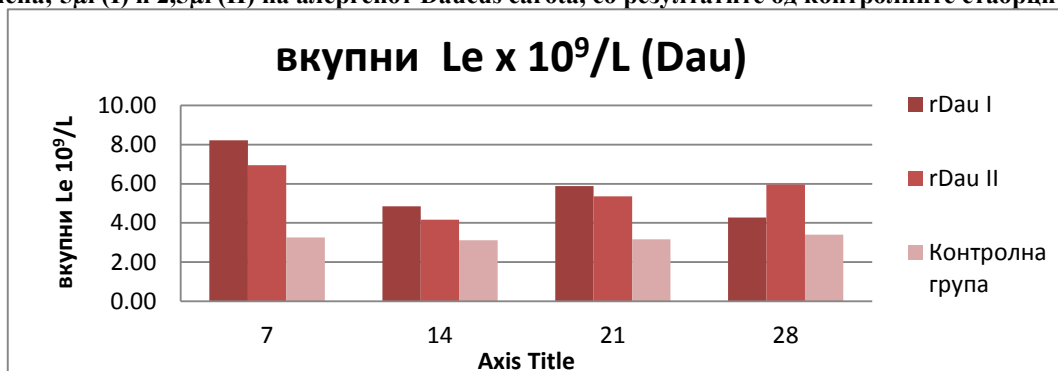


График бр.1 Споредба на вкупниот број на леукоцити кај *D.carota* (I и II) со контролната група

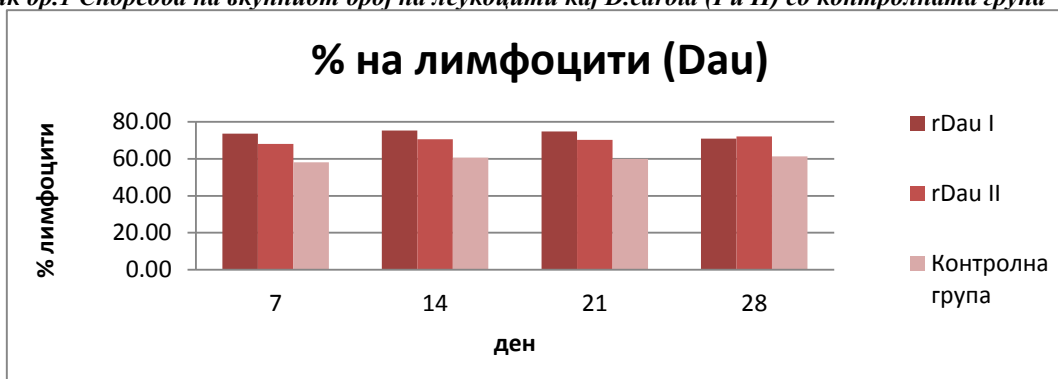


График бр.2 Споредба на процентот на лимфоцити кај *D.carota* (I и II) со контролната група

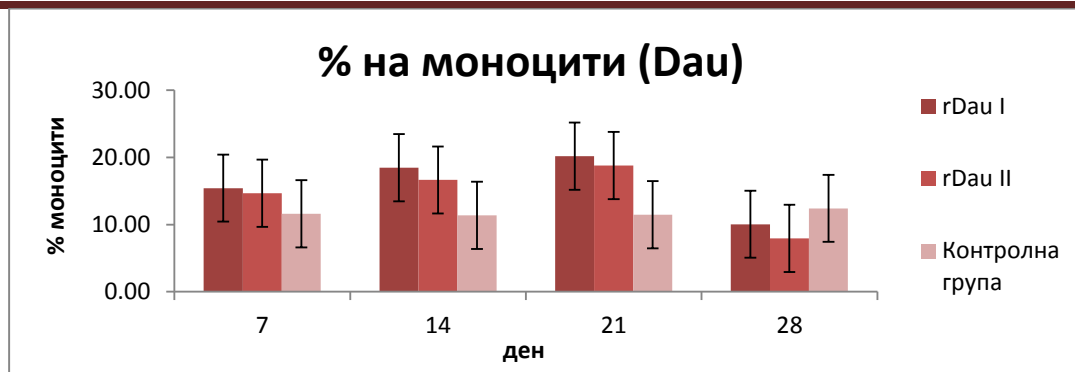


График бр.3 Споредба на процентот на моноцити кај *D.carota* (I и II) со контролната група

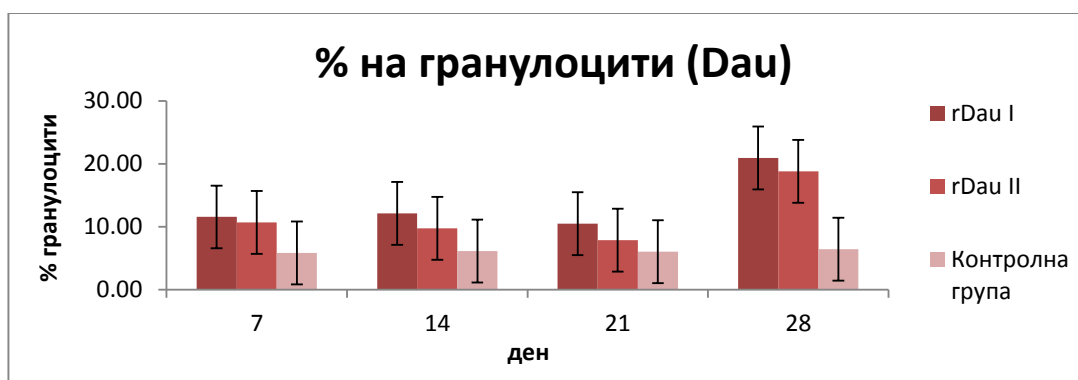


График бр.4 Споредба на процентот на гранулоцити кај *D.carota* (I и II) со контролната група

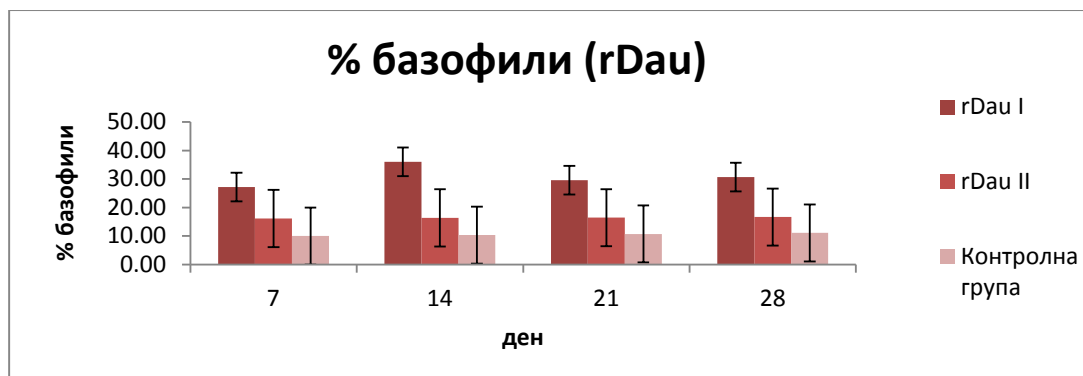


График бр.5 Споредба на процентот на базофили кај *D.carota* (I и II) со контролната група



4.2. Графички приказ на резултатите добиени од ELISA тестот по имунизацијата на стаорците со двата волумена; 5 $\mu$ l и 2,5 $\mu$ l на алергенот *Daucus carota*:

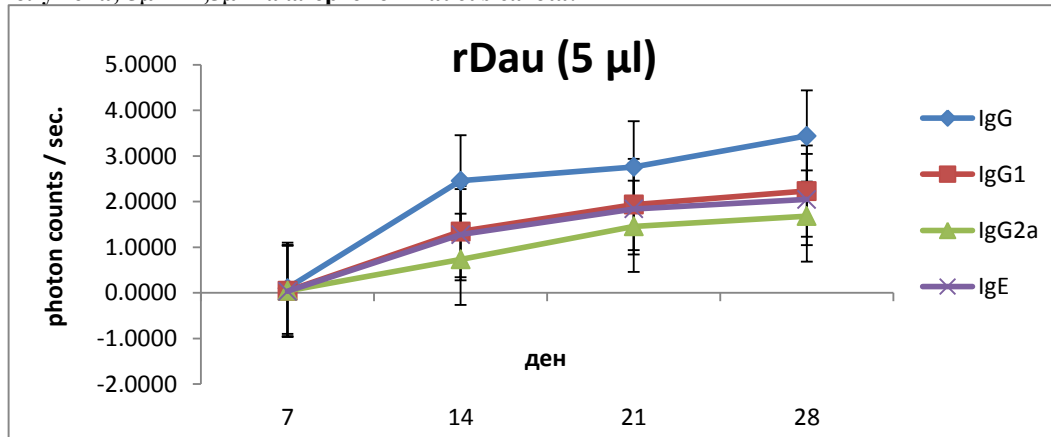


График бр.6 Споредба на резултатите од ELISA тестот кај *D.carota* со волумен на алергенот од 5 $\mu$ l

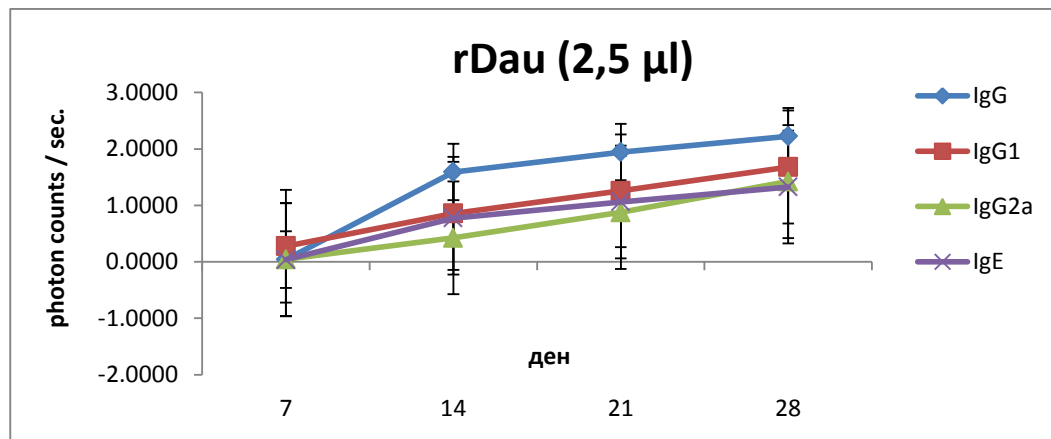


График бр.7 Споредба на резултатите од ELISA тестот кај *D.carota* со волумен на алергенот од 2,5 $\mu$ l

## 5. ДИСКУСИЈА

Имунизацијата на стаорците со алерген од *D.carota* со волумен од 5 $\mu$ l покажува дека вкупниот број на леукоцити во првата недела има енормен раст во однос на контролата со околу  $8,0 \times 10^9/L$ . На 14-иот ден на имунизацијата оваа бројка е благо зголемена над нормалата. На 21-иот ден од имунизацијата има ново покачување на вредноста. На 28-иот ден бројот на леукоцити е речиси еднаков со вредноста на контролната група. Резултатите покажуваат дека процентот на лимфоцити од 7-иот до 21-иот ден е константно покачен од околу 75-77%. Кај имунизацијата на 28-иот ден има опаѓање на вредноста на лимфоцитите, кое не е драстично и изнесува околу 70,8%. Процентот на моноцити на 7-иот ден од имунизацијата беше 15,4%, кој на 14-иот ден се покачи на 18,4%. Мало зголемување на процентот на моноцитите од 21,1% имаше на 21-иот ден, за да на крајот од четвртата недела драстично опадне до 10,0%. Гранулоцитите на почетокот на имунизацијата од 7-иот до 21-иот ден се речиси двојно покачени во однос на контролната група и нивната вредност изнесува 11,5 - 12,1%. На третата недела нивниот број релативно малку се намалува, додека на 28-иот ден нивниот процент е двојно зголемен и достигнува вредност до 20,9%. Базофилите како многу значајни клетки и индикатори за алергиските реакции покажуваат благ пораст во првата и втората недела од имунизацијата, додека во третата и четвртата недела нивниот број стагнира. При имунизацијата на стаорците со алерген со волумен од 2,5 $\mu$ l, има промена на вредностите на крвните параметри, но тие се помалку изразени отколку кај имунизацијата со волумен од 5  $\mu$ l. Бројот на леукоцити својот максимален пораст го достигнува во првата недела, додека во втората недела бројот благо опаѓа. На 21-иот ден бројот благо расте до вредност 5,53%, а на крајот од имунизацијата порастот е до 5,97%. Кај процентот на

лимфоцити порастот е континуиран во тек на имунизацијата, и се движи од 67,9% до 72,1%. Моноцитите во првите три недели континуирано се зголемуваат се додека организмот на стаорецот не се засити со концентрацијата на алергенот, и веќе во четвртата недела доаѓа до двојно намалување на процентот на моноцитите. Процентот на гранулоцитите од почетокот на имунизацијата па се до третата недела благо опаѓа, за да на 28-иот ден нагло се покачи до вредност од 18,8%. Имунизацијата на стаорците со помал волумен на алерген доведува до константна вредност на процентот на базофили во тек на четирите недели од околу 16% [5].

Од графички приказ на резултатите се гледа дека алергенот од *Dacus carota* во концентрација од 5 $\mu$ I и 2,5 $\mu$ I дејствува врз имуниот систем кај белиот лабораториски стаорец и ги менува крвните параметри во различен обем. Интересно е што бројот на леукоцитите во последната недела на имунизација со волумен од 2,5 $\mu$ I е поголем во однос на бројот на леукоцити кај стаорци имунизирани со волумен од 5 $\mu$ I. Исто така, забележавме дека процентот на лимфоцити, моноцити и гранулоцити кај стаорци имунизирани со волумен од 2,5 $\mu$ I беше за нијанса помал во однос на процентот на истите кај стаорци имунизирани со волумен од 5 $\mu$ I. Резултатите од ELISA тестовите се добиени со мерења во текот на четири недели и тоа на 7-иот, 14-иот, 21-иот и 28-иот ден. Мерењата се вршени со помош на абсорбанца на 405nm, при што се запишувани број на фотони во секунда. Со цел добивање на график во истиот беа внесени збирните резултати за секој тип на имуноглобулини кои беа добиени. Со овој тип на тестови беа опфатени четири типа на имуноглобулини: IgG, IgG1, IgG2a и IgE. Од графикот на кои се претставени вредностите за имуноглобулините кај имунизација со *Dacus carota* со волумен од 5 $\mu$ I, се гледа дека кај сите класи на имуноглобулини со тек на времето растат до одредена вредност [2]. Кај IgG таа е највисока, 12,23, IgG1 3,43, IgE 2.04, и IgG2a 1,68. Вредностите за имуноглобулините добиени при имунизација со волумен од 2,5 $\mu$ I од алергенот *Dacus carota* беа IgG, 2,22, IgG1, 1,16, IgG2a 1,42, IgE 1,32. Иако се очекуваше дека вредностите за имуноглобулините при имунизација со помал волумен во однос на поголемиот да бидат пониски, тие драстично не се разликуваат. Алергиска реакција имаме и во двата случаја, но со различен интензитет, кој во основа не се разликува.

## 6. ЗАКЛУЧОЦИ

Од испитувањата кои беа направени со алергенот врз вредностите за крвните параметри леукоцити, лимфоцити, моноцити, гранулоцити и базофили, како и вредностите за IgG, IgG1, IgG2a и IgE со низа методи на микроскопирање и ELISA методи, како и со нивна споредба можеше да се заклучи дека:

- *Dacus carota* предизвикува алергиска реакција кај белите лабораториски стаорци од сојот Wistar, а нејзиниот интензитет директно зависи од волуменот на алергенот. Неговата алергеност зависи од индивидуите кои доаѓаат во контакт со истиот, како и од состојбата на имунитетот на индивидуата, но и од концентрацијата на алергенот кој ќе навлезе во организмот.
- откако ги споредивме концентрациите на имуноглобулините IgG, IgG1, IgG2a и IgE во серумите, заклучивме дека поголемата концентрација на *Daucus carota* предизвикува поголемо покачување на концентрациите на имуноглобулините, во споредба со помалата концентрација од истиот алерген.
- од истражувањето со сигурност заклучивме дека *Daucus carota* предизвикува алергиска реакција кај стаорци од сојот Wistar која се класифицира во тип I хиперсензитивност.

## ЛИТЕРАТУРА

- Buckley, R. H. (2002). *Primary immunodeficiency diseases: dissectors of the immune system*. Immunol Rev. 185:206. Excellent review of the molecular basis and therapy therapy of the major primary immunodeficiency diseases.
- Galli, S. J. et all. (2005). *Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances*. Annu Rev Immunol 23:749. Modern discussions of the activation and regulation of mast cells, and their roles in allergic diseases.
- Goodnow, C. C. et all. (2005). *Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity*. Nature 435:590. Mechanisms of self-tolerance and how they may break down to give rise to autoimmune disease.
- Kay, A. B. (2001). *Allergy and allergic diseases*. First of two parts. N. Engl. J. Med. 344:30, 109. [Superb two-part review of the mechanisms type I hypersensitivity.]
- Libby, P., & Pober, J. S. (2001). *Chronic rejection*. Immunity 14:387. [Well-written summary of the mechanisms of allograft arteriopathy.]
- Schwartz, R. H. (2003). *T cell anergy*. Ann. Rev. Immunol. 21:305. [Excellent review of one of the important mechanisms of T-cell tolerance.]
- Walker, L. S., & Abbas, A.K. (2002). *The enemy within: keeping self-reactive T cells at bay in the periphery*. Nat. Rev. Immunol. 2:11. Review of the known molecular mechanisms of peripheral T-cell tolerance.