

ВИБІРКОВЕ ПРИГНІЧЕННЯ КОНТАКТНИХ ШКІРНО-АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

В. А. Адо

*Кафедра патологічної фізіології медичного факультету Університету дружби народів,
Москва*

Останнім часом з'явилися повідомлення про те, що в патогенезі контактного дерматиту беруть участь особливі «умовно-циркулюючі» антитіла, які мають високу спорідненість до лімфоцитів і тканин шкіри [4]. Підставою для такого висновку послужили дослідження антигенних властивостей 2,4-динітрохлорбензолу (ДНХБ) та інших динітросполук (динітрофеніл — ДНФ, динітробензолсульфат — ДНБС та ін.).

Показано, що контактний дерматит, викликаний у морської свинки ДНХБ, може бути пригнічений (повністю або частково) попереднім внутрішнім введенням ДНХБ за шість годин до нанесення на шкіру свинки цього препарату [2]. Пригнічуючий вплив на розвиток контактного дерматиту спричиняють також різні ДНФ-сполуки з білками сироватки або шкіри тварини [3]. Пригнічення контактного дерматиту, викликаного ДНХБ у свинки, можливе також при внутрішньому введенні ДНФ, сполученого з білками сироватки свинки або бичачим γ -глобуліном [6] (5—29 М на 100 мл сироватки або $1,6 \times 100$ мл γ -глобуліну). Введені рідини містили 38—35 мг/мл ДНФ з білками сироватки свинки і 35—20 мг/мл у концентрації з бичачим γ -глобуліном. Пригнічуючий ефект порівняно короточасний (36—48 год), тому не можна вважати його десенсибілізацію. Пригнічення контактного дерматиту виявляється неповним. Контактний дерматит виникав у 30—40% тварин (приймаючи за 100% дерматит у контрольних тварин, яким не давали згаданих білкових сполук ДНФ). Інші сполуки ДНФ — з цистеїном, лізином — були менш активними і не викликали у свинки пригнічення контактного дерматиту від ДНХБ або пригнічували його значно меншою мірою, ніж сполука ДНФ з білками сироватки свинки. Спроби одержати ефект пригнічення контактного дерматиту від ДНХБ у свинки шляхом внутрішнього введення сполуки ДНФ з білками її шкіри поки не мали успіху [5]. Проте гадають, що білки шкіри і сироватки свинки мають спільні антигени, які реагують з ДНФ і відповідними антитілами. У відповідності з концепцією Гелла та ін. [3] передбачається, що в патогенезі ДНХБ-го контактного дерматиту мають значення не тільки детермінанти ДНФ, але й білкового носія того комплексного антигену, який утворюється в організмі після впливу на свинку ДНХБ або іншими ДНФ-сполуками. Де Уекк та ін. [6] вважають, що при сенсибілізації свинки ДНХБ утворюється кілька видів антитіл проти детермінант як ДНФ, так і ДНФ-білкового комплексу, що виник в організмі тварини. Ці антитіла сенсибілізують лімфоцити, з якими вони зв'язані. Через лімфоцити здійснюється сенсибілізація тканини шкіри. Механізм передачі сенсибілізації лімфоцитами клітин шкіри (дерми) та її епітеліальних клітин до ДНХБ поки не повністю

з'ясований. Повна картина контактного дерматиту розвивається за участю всіх антигенів (детермінант) ДНХБ або динітробензолсульфону (2,4-динітробензолсірчаноокислий натрій) і відповідних їм антитіл. Пригнічення контактного дерматиту виникало при внутрівньому введенні ДНХБ або динітробензолсульфону, які викликають утворення в організмі усіх видів антитіл (цитофільних), що беруть участь у патогенезі контактного дерматиту. Введення ДНФ-сполук з білками сироватки викликає неповне пригнічення контактного дерматиту, зв'язує антитіла тільки одного типу (до однієї з детермінант ДНФ). Інтенсивність контактного дерматиту, на думку Де Уекка [6], залежить від кількості сенсibilізованих лімфоцитів щодо нормальних несенсибилізованих лімфоцитів у шкірі, на яку наноситься допустима порція ДНХБ або іншого динітропрепарату. Показано, що утворення динітрофенілбілкових сполук у шкірі здійснюється дуже швидко [1].

Молекули антигену спочатку реагують з сенсibilізованими лімфоцитами, що знаходяться в ділянці шкіри, куди було нанесено, наприклад, ДНХБ. Потім залишені молекули антигену продовжують сполучатися з новими лімфоцитами, що надходять з крові у шкіру; деякі з них виявляються сенсibilізованими — носять «клітинні» антитіла.

При внутрівньому введенні антигену (ДНФ або його сполук з білком) він сполучається з лімфоцитами крові, але в шкірі кількість цих лімфоцитів, що приєднали антиген, недостатня, щоб викликати видиме запалення. Водночас загальна кількість сенсibilізованих, але таких лімфоцитів, що не приєднали антиген, в організмі зменшується. На цьому фоні розрішальний вплив антигену на ділянку шкіри не натрапить на необхідну кількість сенсibilізованих лімфоцитів, оскільки частина їх була «використана» раніше антигеном при внутрівньому його введенні. В результаті вплив антигену на шкіру не супроводжується утворенням необхідної сполуки «антиген — сенсibilізовані лімфоцити», і дерматит не розвивається.

Методика досліджень

120 білих морських свинок-самців вагою 450—500 г поділили на дві групи: 60 експериментальних і 60 контрольних.

Усіх морських свинок — і експериментальних, і контрольних сенсibilізували аплікацією 50%-ного розчину 2,4-динітрохлорбензолу (ДНХБ) на ацетоні на шкіру площею 0,5 см², ближче до шиї, два дні підряд. Шерсть зони аплікації заздалегідь вибривали. Ця методика дає 100%-ну сенсibilізацію всіх тварин [6].

Через два тижні після первинної активної сенсibilізації всіх експериментальних тварин (60 морських свинок) поділили на п'ять груп (по 12 тварин):

I групі за 6 год до нанесення на свіжодепільовану ділянку шкіри однієї краплі 0,02%-ного динітрохлорбензолу на ацетоні (для провокування розвитку алергічної реакції уповільненого типу) вводили внутрівньо 2,4-динітрохлорбензол на ТВІН-80 з розрахунку 5—10 мг/кг.

II групі за 12 год вводили ту саму дозу препарату.

III групі за 24 год вводили ту саму дозу за тією ж методикою.

IV групі за 48 год внутрівньо вводили ту саму дозу препарату.

V групі за 72 год внутрівньо вводили ту саму дозу препарату.

Реакцію читали через 6 год після нанесення аплікуючої дози — провокатора, після чого тварин забивали знекровленням і біопсували ділянки запаленої шкіри, яку залучали в процес, для гістологічного обслідування.

Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином за загальноприйнятою методикою. Одержані препарати зрізів шкіри вивчали мікроскопічно, а потім фотографували.

Результати досліджень

Аналіз одержаних результатів при порівнянні мікропрепаратів зрізів шкіри експериментальних і контрольних тварин показав, що гістологічна картина зрізів шкіри контрольних тварин дала повну і розвинену реакцію експериментального контактного дерматиту у мор-

ських свинок з інфільтрацією підепітеліального шару, набряком і вакуолізацією епітелію, відшаруванням епідермісу у всі строки дослідження (6, 12, 24, 48 і 72 год) — розвиток дерматиту.

У морських свинок, яким внутрівнено вводили 2,4-динітрохлорбензол, виявилась різка інгібіція підепітеліальної мононуклеарної інфільтрації шкіри, особливо при введенні препарату за 6 год до нанесення аплікаційної дози ДНХБ на свіжодепільовану шкіру експериментальної тварини аж до повного зникнення мононуклеарної інфільтрації і наближення гістологічної картини зрізів шкіри експериментальних тварин до нормальних морських свинок, які не зазнали ніякої сенсibiliзації, що чітко видно при аналізі мікрофото зрізів шкіри контрольних і експериментальних тварин (рис. 1, 2).

При порівнянні мікропрепаратів зрізів шкіри експериментальної серії тварин II групи, яким 2,4-динітрохлорбензол вводили за 12 год, з контрольними тваринами цієї ж групи виявилось, що пригнічення розвитку контактного дерматиту у експериментальної групи здійснюється, але меншою мірою.

Вивчення мікропрепаратів зрізів шкіри тварин експериментальних серій III, IV і V, де морським свинкам вводили 2,4-динітрохлорбензол за 24, 48 і 72 год відповідно, показало, що пригнічення розвитку контактного дерматиту тим більш виражено, чим менший строк між початком внутрівненого введення 2,4-динітрохлорбензолу і нанесенням аплікаційної дози-провокатора на шкіру морських свинок експериментальних серій (рис. 1, 2, 3).

Це підтверджується тим, що інгібіція розвитку контактного дерматиту при внутрівненому введенні 2,4-динітрохлорбензолу за 72 год до нашкої аплікації дози-провокатора і за 48 год виражена слабкіше, ніж за 12, 24 і, особливо, 6 год на нанесення розрішальної дози провокатора-апліканта, що свідчить про тимчасову інгібіцію алергічних реакцій уповільненого типу на моделі експериментального контактного дерматиту, і узгоджується з думкою деяких дослідників [6] (рис. 2, 3).

Питання про специфічність спостережуваної нами інгібіції щодо різних хімічних алергенів описане в літературі [2]. Показано, що при сенсibiliзації морських свинок до мафарсиду (3-аміно-4-гідрокси-феніл-арсиноксидгідрохлорид) і одночасно до неосальварсану (3,3'-діаміно-4,4'-дигідрокси-арсонобензол — N-метилен-сульфоксилат) контактний дерматит до неосальварсану у них тварин вибірково пригнічується внутрівненим введенням тільки неосальварсану.

Контактний дерматит, викликаний сенсibiliзацією морських свинок мафарсидом, при цьому повністю зберігається.

У відповідності з цими новими даними, пригнічення контактного 2,4-динітрохлорбензолового дерматиту у морських свинок в наших дослідках слід розглядати як специфічну реакцію організму на вплив 2,4-динітрохлорбензолу.

Як уже підкреслювалось, внутрівнене введення антигену специфічно і тимчасово пригнічує шкірну реактивність у тварин з уповільненим типом гіперчутливості до різних антигенів [2, 3]. Схожими процедурами вже досягнуте специфічне пригнічення на нетривалий час контактної гіперчутливості у сенсibiliзованих до 2,4-динітрохлорбензолу морських свинок [2, 6].

Комплексна, повна інгібіція (пригнічення) виникає лише тоді, коли «інгібуючий» (або «десенсibiliзуючий») антиген має всі антигенні детермінанти, до яких тварина стала гіперчутливою в сенсibiliзаційному періоді. Звідси випливає, що повної інгібіції (пригнічення) реакцій до контактних сенсibiliзаторів (які, видимо, утворюють широкий спектр різних антигенних детермінант) «in vivo» — більш важко досягти, ніж

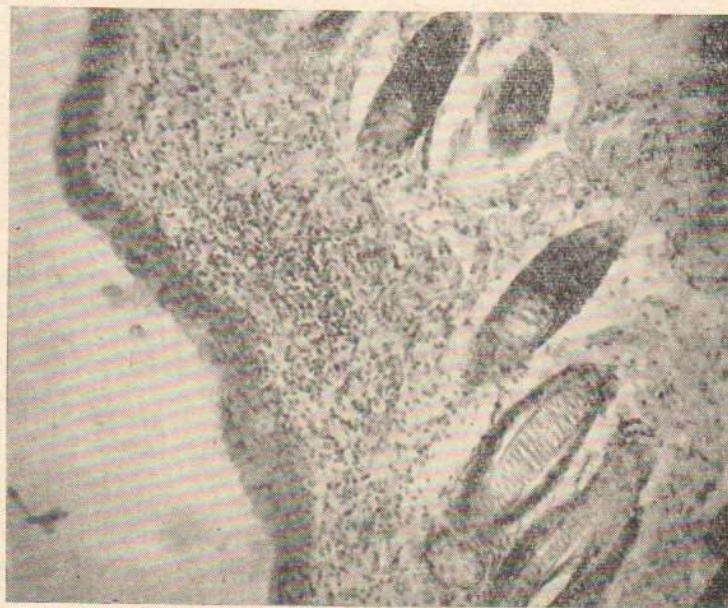


Рис. 1. Зріз шкіри контрольної морської свинки на 14-й день сенсibiлізації.
Різка інфільтрація підепітеліального шару мононуклеарами. Набряк і вакуолізація епітелію. Відшарування епідермісу.
×200. Гематоксилін-еозин.



Рис. 2. Зріз шкіри експериментальної морської свинки на 14-й день сенсibiлізації.
За шість годин до тестування введено 2,4-ДНХВ на ТВІНІ-80. Інфільтрація підепітеліального шару шкіри нема. Набряк епітелію не відзначено. Вакуолізація відсутня.
×200. Гематоксилін-еозин.



Рис. 3. Зріз шкіри експериментальної морської свинки на 14-й день сенсibiлізації.
За 72 год до тестування введено 2,4-ДНХВ на ТВІНІ-80. Інфільтрація підепітеліального шару. Набряк епітелію. Відшарування епідермісу.
×200. Гематоксилін-еозин.

наприклад, пригнічення уповільнених реакцій туберкулінового типу, коли тварин сенсibilізують білками або сполуками (гаптен + білок), виготовленими «*in vitro*» [3, 6].

Хоч точний механізм тимчасового пригнічення (або, з точки зору класичного визначення, «десенсibilізації») алергічних реакцій уповільненого типу ще невідомий, деякі аргументи свідчать на користь того факту, що нечутливість виникає внаслідок периферичного виснаження якихось медіаторів цієї реакції — антитіл, або специфічних лімфоцитів (на що важко тепер дати точну позитивну відповідь), які відповідають за прояв реакції уповільненого типу [6]. Найімовірніше швидке і позитивне відновлення або поява цих медіаторів є основою швидкого відновлення стану гіперчутливості у тварин в умовах експерименту.

Повне пригнічення уповільненої шкірної гіперчутливості у морських свинок, сенсibilізованих до неосальварсану, наприклад, здійснювалось масивним введенням його внутрішньо з наступним одержанням негативних шкірних тестів до 12 год і більше [2]. Одна внутрішньовідно ін'єкція не може викликати тривалого пригнічення. Тому деякі тварини вже через 24 год, три дні, а потім уже всі тварини, тестовані через сім днів після внутрішньовідно ін'єкції, знову набули втрачений ним тимчасово стан гіперчутливості.

Несподіваним відкриттям виявився той факт, що призначене в сукупності введення десенсibilізуючої дози антигену внутрішньо і внутрішкірно (разом) здатне дати пролонговану втрату гіперчутливості, тобто десенсibilізацію у повному розумінні цього слова. Виявилось, що для одержання максимального ефекту внутрішкірну ін'єкцію слід здійснювати після внутрішньовідно у проміжку від 6 до 12 год. Десенсibilізуючий ефект оцінюється не лише за ступенем втрати гіперчутливості, а й за тривалістю цього стану [2].

Десенсibilізуючий ефект імунологічно специфічний, оскільки не стосується гіперчутливості експериментальних тварин до інших алергенів, що доводиться перехресними реакціями. Проте, повний провідник Фрейнда може спричиняти тривалий неспецифічний десенсibilізуючий ефект при внутрішкірному його введенні, механізм якого ще не з'ясований [2].

На перший погляд здається парадоксальним, що додавання внутрішкірного введення неосальварсану, наприклад, в дозі 150 мкг до десенсibilізуючого внутрішньовідно введення його в дозі 30 мкг викликає тривалий стан десенсibilізації, тоді як та сама кількість неосальварсану, введена тільки внутрішньо — неефективна. Проте, не можна в цьому випадку всі ці описані явища порівнювати тільки з кількісної точки зору, оскільки найімовірніше припустити, що введення антигену до тканини, особливо внутрішкірно, сприяє утворенню білково-гапте-нових сполук більшою мірою, ніж при внутрішньовідно введенні. Сенсibilізація залежить від формування сполук «*in vivo*», і досягається легше та з меншою кількістю алергену, якщо його призначати внутрішкірно, а не внутрішньо [2].

Досі, проте, залишається нез'ясованим факт, чи є 2,4-динітрохлорбензол, неосальварсан, пікрилхлорид та інші сенсibilізатори з простих хімічних сполук активніючими (у цьому розумінні) лише при сполученні їх «*in vivo*» або ні?

Досі невідома доля ні внутрішньо, ні внутрішкірно введених простих хімічних сполук. Неможна з упевненістю сказати це і про медіатори уповільненого типу гіперчутливості.

Десенсibilізуючий ефект внутрішкірного введення повного провідника Фрейнда, видимо, можна пов'язати з уповільненим виділенням введених внутрішньо простих хімічних сполук.

Висновки

1. Внутрішніми введеннями 2,4-динітрохлорбензолу можна пригнітити розвиток алергічного контактного 2,4-динітрохлорбензолового (ДНХБ) дерматиту у морських свинок в умовах експерименту безпосередньо перед початком тестування на 14-й день від початку сенсибілізації.

2. Доза 2,4-динітрохлорбензолу, необхідна для повної, успішної реакції пригнічення розвитку алергічного контактного 2,4-динітрохлорбензолового дерматиту у морських свинок на 14-й день тестування від початку сенсибілізації становить 5—10 мг на розчині ТВІН-80.

3. Реакція специфічного пригнічення алергічного контактного 2,4-динітрохлорбензолового дерматиту у морських свинок в умовах експерименту виражена більш демонстративно і чітко при тестуванні через 6 год після введення внутрішньо 2,4-динітрохлорбензолу з метою інгібування.

4. Реакція специфічного пригнічення алергічного контактного 2,4-динітрохлорбензолового дерматиту у морських свинок в умовах експерименту тимчасового характеру: через 72 год після введення внутрішньо 2,4-динітрохлорбензолу стан гіперчутливості шкіри тварини до 2,4-динітрохлорбензолу починає поступово відновлюватися.

Література

1. Eisen H., Belman S., Carsten M.—J. Am. chem. Soc., 1953, 75, 4583.
2. Frey J., Geleick H.—Dermatologica (Basel), 1962, 125, 132.
3. Gell P., Benacerraf B.—J. exp. Med., 1961, 113, 571.
4. Karush F., Eisen H.—Science, 1962, 136, 1032.
5. Newton N., Eisen H.—In: Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitivity States. N. Y., 1959, 89.
6. Weck A. de, Frey J., Geleick H.—J. Invest. Derm., 1961, 113, 571.

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ПОДАВЛЕНИЕ КОНТАКТНЫХ КОЖНО-АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

В. А. Адо

Кафедра патологической физиологии медицинского факультета
Университета дружбы народов, Москва

Резюме

Данная работа посвящена изучению избирательного подавления контактных кожно-аллергических реакций.

Показано, что превентивное внутривенное введение агента-сенсибилизатора (2,4-динитрохлорбензола) морским свинкам до начала их тестирования провокатором-апликантом ингибирует развитие кожно-аллергических реакций.

Эффект ингибиции носит временный характер (до 72 часов).

SELECTIVE SUPPRESSION OF CONTACT SKIN-ALLERGIC RESPONSES

V. A. Ado

Department of Pathological Physiology of the Medical Faculty, the Friendship
of Nations University, Moscow

Summary

The work deals with a study of selective suppression of the contact skin-allergic responses.

It is shown that the preventive intravenous administration of agent-sensibilizer (2,4-dinitrochlorobenzene) to guinea-pigs before the beginning of their testing by provocation-applicant inhibits the development of skin-allergic responses.

The inhibition effect is of a temporary character (up to 72 hours).