ФІЗІОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНСЬКОЇ РСР, 1975, т. XXI, № 4

УДК 612.438

МОДЕЛЮВАННЯ ХІМІЧНИХ АЛЕРГОЗІВ, ЇХ ВИБІРКОВЕ ТА НЕСПЕЦИФІЧНЕ ПРИГНІЧЕННЯ

В. А. Адо, Л. А. Горячкіна

Науково-дослідна алергологічна лабораторія АМН СРСР, Москва

Поширення алергічних реакцій і захворювань, пов'язаних з процесами сенсибілізації низькомолекулярними хімічними речовинами, помітно збільшилось останнім часом як за кордоном, так і в нашій країні [1]. Вивчення механізмів сенсибілізації цими речовинами з малою молекулою, способів попередження та пригнічення таких алергічних реакцій і захворювань, індукованих хімічними речовинами з невеликою молекулярною вагою, є дуже актуальним і своєчасним [2]. Інтенсифікація досліджень у цій галузі диктується хімізацією та індустріалізацією народного господарства. Синтезується величезна кількість найрізноманітніших сполук, ліків, лаків, фарб, предметів побутової хімії, пестицидів, гербіцидів, добрив, косметичних та миючих засобів, пластичних мас тощо. З'явились повідомлення про розвиток алергічних реакцій до металів і металоїдів [4, 6—8]. Питання ж специфічної, вибіркової, вузьконаправленої інгібіції станів гіперчутливості даного типу, індукції статусів імунологічної нечутливості ще тільки починають розроблятися в експериментальній практиці; більш широко і повно вивчені механізми неспецифічної інгібіції імунологічної реактивності організму як в експериментальному, так і в клінічному плані.

Методика досліджень

Ми досліджували можливість сенсибілізації в експерименті 128 морських свинок, 96 іранських хом'ячків, 47 кроликів такими хімічними алергенами, як: I—2,4-динітрохлорбензол (ДНХБ), пікрилхлорид, динітрофторбензол; II — сполуки миш'яку (новарсенол, тальварсен, міарсенол, осарсол; III — кон'югати (динітрофенол+бичачий гамма-глобулін, DNP+BGG і динітрофенол+бичачий фібриноген, DNP+BF), пікрильовані кон'югати (ПК); IV — нативні і денатуровані білки; V — біхромат калію ($K_2Cr_2O_7$), азотно-кислий кобальт ($CoNo_{3/2}$), хлористий нікель ($NiCl_2$). Сенсибілізацію здійснювали за методиками [3, 5, 7, 10—13], хімічний алерген вводили в тканину вушної раковини тварин на повному провіднику Фрейнда, оливковій олії, Твін-20, 80, Спен та в різних органічних розчинниках. Одночасно і паралельно ставили контрольні досліди (стадії сенсибілізації) з фізіологічним розчином і бідистильованою водою. Тестування піддослідних тварин проводили на 7, 14, 21, 29 і 35, 100, 180 доби від початку сенсибілізації (через 6—24 *год* здійснювали реєстрацію індукованих реакцій підвищеної чутливості).

Для вивчення можливості утворення перехресної сенсибілізації тварин сенсибілізували одним хімічним алергеном (або кон'югатом), а розрішали іншим: як спорідненими, так і неідентичними.

Для вивчення можливості вибіркового специфічного пригнічення КШАР (контактні шкірно-алергічні реакції) був обраний метод внутрівенного депонування первинного сенсибілізатора (алергена, кон'югата або компаунда) в різних буферних сумішах (Твін—Спен) та оливковій олії у різні строки до тестування: від 168 до 6 *год*. Алергени ін'єкували внутрівенно в дозах від 3—5 *мкг* (низькомолекулярні сенсибілізатори) до 500—1500—3000 *мкг* (кон'югати). Реєстрацію КШАР здійснювали імуноморфологічними і імуногістологічними методами.

Досліджували також можливість індукування статусу так званої імунологічної «толерантності» (нечутливості) у тварин до згаданих хімічних алергенів шляхом їх

депонування внутріочеревинно в Твіні і оливковій олії. Внутріочеревинні ін'єкції провадили за 1—2—3—5—7—9 місяців до сенсибілізації, тестування — через 7—14—24—180 діб після початку сенсибілізації. Реєстрацію КШАР здійснювали як відомими вже й загальноприйнятими методиками, так і при застосуванні імуноморфологічних та імуногістохімічних методів з допомогою гістологічних (із забарвленням за Романовським—Гімза, Ван-Гізоном, азур-2-еозином) і гістохімічних методів (із забарвленням за Фельгеном, Браше, Малорі, Гейденгайном, Пінкусом, Пірс, Ейнарсоном, Масоном, Уном—Паппенгеймером; бромфеноловим синім;Вейгертом, Бернет — Зелігманом, Берстоном—Сабатіні, Браун — Фалко, Гессом, Петцольдом, Максимович та ін., Адо [4]) біопсованих ділянок шкіри, залучених у процес специфічної альтерації заздалегідь вмертвлених піддослідних і контрольних тварин. Біопсовані ділянки шкіри фіксували в рідині Карнуа і абсолютному спирті. Одержані гістологічні препарати (до 150—200 з кожного блока) досліджували під мікроскопом і порівнювали з наступним мікрофотографуванням.

Ми досліджували можливість неспецифічної інгібіції алергічних реакцій: 1) алкілуючими агентами — проспідином, цитоксаном, R-74, новембітолом, триспіризидином, Лі-105, Лі-108, етиленмеламіном, циклофосфамідом, ендоксаном, сарколізином; 2) антиметаболітами — Кі-7, імураном, 6-МР, 6-тіогуаніном, 8-азогуаніном, N^6-аденозином і N^6-пуриннуклеозином; 5-бромдезоксіуридином, 6-азауридином, 5-фторурацилом, цитарабіном, адамантоїл-цитарабіном; 3) цитостатиками — вінбластином, гідроксіуреа, вінкристоном, колхіцином; 4) інгібіторами клітинних ферментів — епсилон-амінокапроновою кислотою, циклолейцином, етіоніном, тієнілаланіном, N-діазоацетилгліцинамідом; 5) антибіотиками-імунодепресантами — дактиноміцином, хлорамфеніколом, буроміцином, синтоміцином, азасерином, антибіотиком «1719», брунеоміцином, блеоміцином, рубоміцином, оліволміцином, карміноміцином; 6) гормональними препаратами — деперзолоном, гумактидом-28, гумактидом-39; 7) антагоністами фолієвої кислоти — метатрексатом, аміноптерином, аметоптерином.

Ми вивчали також можливість інгібування хімічних алергозів альфа-2-глобуліновою фракцією.

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення можливості сенсибілізації тварин різними хімічними алергенами (сенсибілізаторами) і кон'югатами показало, що найбільш сильними з них є такі, як пікрил-хлорид, 2,4-динітробензол, динітрофторбензол, динітрофлуоробензол. При сенсибілізації і тестуванні ними у тварин виникають чіткі, демонстративно і класично виражені КШАР: візуально такі реакції реєструються на «3,0» за Кохеном [9] — бордово-червона папула 3—5 *мм* в діаметрі, набрякла, в центрі іноді петехіальні геморагії і осередки некрозу. Імунологічно виявляється густа інфільтрація піденітеліального шару імуно-компетентними мононуклеарними елементами, що проникають в епітелій і немов «роз'їдають» його, руйнівними, дезінтегруючими. Епітелій набряклий. В ньому численні міжклітинні і внутріклітинні вакуолі, і в кожній — стороння мононуклеарна клітина («спонгіоз» і «спонгіотичні крапки» Ваксмана [14]). Епідерміс відшарований. Судини глибоких шарів дерми оточені, а стінки інфільтровані і зруйновані таки ж мононуклеарними елементами — так звана «мононуклеарна манжета». Менш демонстративна картина виникає при сенсибілізації «середніми» хімічними сенсибілізаторами: препаратами з групи сполук миш'яку. Важче відтворити в експерименті алергічні реакції до так званих «слабких» хімічних алергенів: біхромату калію, азотно-кислого кобальту, а також хлористого нікелю. Кон'югати в цьому розумінні посідають проміжне положення, часом наближаючись то до першої групи сенсибілізаторів, то до останньої, що залежить, видимо, від цілого ряду причин: дозування кон'югатів, pH середовища, якості буфера та його об'єму, способу введення, характеристики білка-носія тощо. Спроба вивчення можливості індукції алергічних реакцій перехресного типу виявила, що вони виникають тільки між спорідненими (але не ідентичними) хімічними алергенами (наприклад, новарсенолом, з одного боку, і сальварсаном, осарсолом міарсенолом, з іншого боку). Між неспорідненими і неідентичними сенсибілізаторами перехресні алергічні реакції

не виникають, що може
можливості специфічног
показало, що воно може
хімічного сенсибілізатор
менший строк між таки
з тестуванням, тим яскра
вливання неспорідненого
ло інгібіції такої КША
строк до тестування інгі
ба одержання аналогічн
ними алергенами також
зюче відрізнялась у бік з

Дослідження провед
ної «толератності» до р
що він індукується найб
150 діб), якщо проміжо
очеревинне депонування
45 діб. Аналогічне явищ
мічними алергенами нам
дози депонованих толер
них при використанні си
імунологічної інертності
рами був стійким (до 72
з сполуками миш'яку —

При вивченні можл
фічними засобами в наш
лись імунодепресанти
«Лі-103», «Лі-105», «Лі-
активно пригнічував упо
та цитостатики вінбласт
ні властивості. Епсилон
деяких випадках він інте
ків. Негайні алергічні р
імураном, «Кі-7», вінбл
ксіуреа виявилась найме
женими імунодепресивн
й альфа-два-глобулінова
хімічні алергени на «си
міжне положення (так з
ливий розвиток так зван
неними, але неідентичн
специфічне пригнічення
генами, можливе внутрі
вання. Внутріочеревинн
ферних сумішах) індук
ності». З хімічних препа
інгібітори «Кі-7», дект
(біосупресин). Блеоміци
як і карміноміцин (але в

Застосування нами
фізіологічних і патофізі
енцефалографія, електр
контактної люмінесцент
мікроскопії, лазерних ус
методами (базофільні т

не виникають, що може служити відповідним контролем [4]. Вивчення можливості специфічного, вибіркового пригнічення алергічних реакцій показало, що воно може здійснюватися при внутрівенному депонуванні хімічного сенсибілізатора в різних буферних сумішах; причому, чим менший строк між таким гіпосенсибілізуючим впливом і маніпуляцією з тестуванням, тим яскравіший процес вибіркової інгібіції; в контролі ж вливання неспорідненого (і неідентичного) сенсибілізатора не викликало інгібіції такої КШАР. При інгібуючому впливі за більш тривалий строк до тестування інгібіції не виникало, або вона була незначна. Спроба одержання аналогічного феномена з так званими «слабкими» хімічними алергенами також успішно закінчилась, але толерогенна доза разюче відрізнялась у бік збільшення.

Дослідження проведені нами по відтворенню феномена імунологічної «толератності» до різних хімічних алергенів і кон'югатів показали, що він індукується найбільш яскраво і повно в тому випадку (до 140—150 діб), якщо проміжок часу між толерогенною процедурою (внутріочеревинне депонування) і циклами сенсибілізації скорочується до 30—45 діб. Аналогічне явище при сенсибілізації так званими «слабкими» хімічними алергенами нам в експерименті відтворити також вдалося, але дози депонованих толерогенних доз значно відрізнялись від застосованих при використанні сильних і середніх сенсибілізаторів. Феномен такої імунологічної інертності при маніпуляціях з «сильними» сенсибілізаторами був стійким (до 72 *год* і більше), з кон'югатами — до 96—120 *год*, з сполуками миш'яку — до кількох тижнів і навіть місяців [4].

При вивченні можливості пригнічення алергічних реакцій неспецифічними засобами в наших експериментах найбільш ефективними виявились імунодепресанти «Кі-7»; токсичними — цитостатики «Лі-102», «Лі-103», «Лі-105», «Лі-108»; з алкілуючих агентів проспідин найбільш активно пригнічував уповільнену алергію; імунодепресант дактиноміцин та цитостатики вінбластин і вінкристин мають виражені імунодепресивні властивості. Епсилон не проявляв вираженої імунодепресивної дії: в деяких випадках він інтенсифікував розвиток феномена Артюса у кроликів. Негайні алергічні реакції найбільш демонстративно інгібувались імураном, «Кі-7», вінбластином, вінкристином, дактиноміцином, гідроксіуреа виявилась найменш токсичним препаратом, поряд з досить вираженими імунодепресивними властивостями. Виразну інгібуючу дію має й альфа-два-глобулінова фракція. Отже, доцільно, видимо, поділяти всі хімічні алергени на «сильні» і «слабкі», а також ті, що посідають проміжне положення (так звані «середні»). Очевидно, принципіально можливий розвиток так званих перехресних алергічних реакцій між спорідненими, але неідентичними хімічними алергенами. Водночас вибіркове, специфічне пригнічення алергічних реакцій, викликаних хімічними алергенами, можливе внутрівенним депонуванням сенсибілізатора до тестування. Внутріочеревинне депонування хімічних алергенів(у різних буферних сумішах) індукує розвиток феномена імунологічної «толерантності». З хімічних препаратів виразну імунодепресивну дію проявляли інгібітори «Кі-7», дектиноміцин, вінбластин, вінкристин, гідроксіуреа (біосупресин). Блеоміцин також виявився сильним імунодепресантом, як і карміноміцин (але він токсичний).

Застосування нами останнім часом деяких спеціальних електрофізіологічних і патофізіологічних методик (електроміографія, електроенцефалографія, електрокардіографія, реовазографія), використання контактної люмінесцентної мікроскопії, тепловідеографії, електронної мікроскопії, лазерних установок, у комплексі з деякими алергологічними методами (базофільні тести, МІФ-тести, тест розеток, тест специфічної

деструкції клітин-мішеней клітинами-кіллерами, тест лімфо-стимуляції за Лінгом) виявилися придатними для ідентифікації специфічної і неспецифічної інгібіції хімічних алергозів.

Найбільш цінними з біохімічних і цитологічних виявилися методики реєстрації рівнів найрамінової кислоти в сироватці (за Гесом), а також визначення кількісного вмісту мононуклеарів (лімфоцитів і тимоцитів) і нуклеїнових кислот (ДНК і РНК) в органах центрального і периферичного апарата [1].

Резюмуючи викладене, доцільно заключити, що попередні результати, одержані нами, а також іншими дослідниками, дозволяють сподіватися, що, видимо, в принципі можлива як неспецифічна, так і специфічна регуляція рівнів хімічних алергенів, оскільки тепер все більше синтезується хімічних препаратів, як (специфічно) інгібуючих, так і інтенсифікуючих індукцію та розвиток таких хімічних алергозів. Перевага, проте віддається методам специфічної цілеспрямованої гіпосенсибілізації без зменшення потенціальної загальної неспецифічної резистентності. Проте в багатьох лабораторіях нашої країни і за кордоном продовжуються пошуки неспецифічних хімічних імунодепресантів, які вибірково пригнічують підвищену чутливість негайного типу, вузьконаправлено пригнічуючи проліферативну реактивність, імунологічну пам'ять, імунокомпетентність і функціональні здатності «В»-лімфоцитів і плазматичних клітин Унна (циклофосфамід і хлорамбуцил, наприклад), з одного боку, та інгібуючих переважно «Т»-лімфоцити і підвищену чутливість уповільненого типу (як, наприклад, прокарбазин та інші деривати метил-гідразину), з іншого. Різні співвідношення таких неспецифічних хімічних інгібіторів можуть вибірково впливати на алергічні реакції проміжного типу [4], а при зміні доз інтенсифікувати їх виникнення і розвиток. Отже, поряд з існуванням високо ефективних методів специфічного впливу на алергічні реакції доцільно припустити можливість використання і неспецифічних методів вибіркового впливу на алергічні реакції негайного, уповільненого і проміжного типів. Ця обставина набуває дуже важливого практичного значення в тих випадках, коли ідентифікувати алерген (або групу алергенів) у хворого-алергіка неможливо (з цілого ряду об'єктивних причин), а також при лікуванні аутоімунних захворювань і в хірургічній практиці — в клінічній трансплантології.

Література

1. Адо А. Д.— Общая аллергол., М., 1970.
2. Адо В. А., Горячкина Л. А.— Подавление аллергич. реакций низкомолекулярными соед., Минск, 1971.
3. Адо В. А.— Фармакол. и токсикол., 1972, 1, 71.
4. Адо В. А.— Химические аллергозы. Автореф. дисс., М., 1973.
5. Медуницын Н. В.— Замедленная аллергия к растворимым белкам. Автореф. дисс., М., 1970.
6. Рабен А. С., Алексеева О. Г., Дуева Л. А.— Экспер. аллергич. контактный дерматит, М., 1970.
7. Рабен А. С., Антоньев А. А.— Профес. болезни кожи, вызываемые химич. веществами, М., 1966.
8. Сомов Б. А.— В сб.: Итоги VI Всесоюзн. съезда дермато-венерологов, Харьков, 1973.
9. Cohen H.— Is. J. of M. S., 1966, 2, 1, 37.
10. Frey J., De Weck A., Geleick H.— Science, 1964, 144, 853.
11. Landsteiner K., Chase M.— Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1942, 49, 688.
12. Parker D., Aoki T., Turk J.— Arch. of All. a. Appl. Imm., 1970, 38, 1, 42.
13. Siskind G., Benacerraf B., Paul W.— J. exp. Med., 1966, 123, 673.
14. Waksman B.— J. exp. Med., 1960, 114, 997.

Надійшла до редакції
12.V 1974 р.

MODELLING OF CHEMICAL ALLERGOSES, THEIR SELECTIVE AND NONSPECIFIC INHIBITION

V. A. Ado, L. A. Goryachkina

Research Allergological Laboratory, Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow

Summary

The article deals with the possibility to obtain the state of the type of immunological tolerance to the low-molecular chemical agents. A problem is under discussion on the selective nonspecific inhibition of chemical allergoses with certain inhibitorgens-immunodepressants, that is of paramount importance for practical medicine.