

УДК 546.9.576.8.097.2

В. А. Адо

МОДЕЛИРОВАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ АЛЛЕРГОЗОВ, ИХ ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЕ УГНЕТЕНИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ

В последнее время наблюдается все более широкое распространение аллергических реакций и заболеваний, связанных с процессами сенсибилизации низкомолекулярными химическими веществами [1]. В связи с этим понятна актуальность изучения механизмов сенсибилизации указанными веществами, разработки способов предупреждения и угнетения таких аллергических реакций и заболеваний [5]. Интерес к этой проблеме вызван и тем, что в настоящее время синтезируется огромное количество самых разных химических соединений — лекарственных, лаков, красок, предметов бытовой химии, пестицидов, гербицидов, удобрений, косметических агентов, моющих средств, пластических масс и др. Участились сообщения о развитии аллергических реакций к металлам и металлоидам [3, 8—10]. Вопросы же специфической избирательной, точно направленной ингибиции состояний гиперчувствительности данного типа, индукции статусов иммунологической нечувствительности только начинают разрабатываться в эксперименте; более полно изучены как в экспериментальном, так и в клиническом плане механизмы неспецифической ингибиции иммунологической реактивности организма.

Методика исследований

Мы изучали возможность сенсибилизации экспериментальных животных — морских свинок (128), иранских хомячков (96) и кроликов (47) — такими химическими аллергенами, как 2,4-динитрохлорбензол (ДХНБ) — I, пикрилхлорид, динитрохлорбензол; соединения мышьяка: новарсенол, сальварсан, миарсенол, осарсол (II); конъюгаты — динитрофенол+бычий гамма-глобулин ($DNP+BGG$) и динитрофенол+бычий фибриноген ($DNP+BF$) (III); пикрированные конъюгаты (ПК: $DNP+BF$) нативные и денатурированные белки (IV); бихромат калия, азотнокислый кобальт, хлористый никель (V). Сенсибилизацию животных ДХНБ осуществляли по [12], сенсибилизацию соединениями мышьяка [14] по [13], соединениями группы III по [15], группы IV — по [7]. Сенсибилизацию веществами группы V проводили по [9] в нашей модификации [2]; химический аллерген вводили в ткань ушной раковины животных на полном проводнике Фрейнда, оливковом масле, твин-20, твин-80, *span* и в различных органических растворителях. Одновременно и параллельно (стадии сенсибилизации) проводили контрольные опыты с физиологическим раствором и бидистиллированной водой. Тестирование подопытных животных осуществляли на 7, 14, 21, 29, 35, 100 и 180 сут от начала сенсибилизации (через 6—24 ч регистрировали индуцированные реакции повышенной чувствительности).

Для изучения возможности образования перекрестной сенсибилизации животных сенсибилизировали одним химическим аллергеном (или конъюгатом), а разрешали другим — родственным или неидентичным.

Для изучения возможности избирательного специфического угнетения контактных кожно-аллергических реакций (ККАР) избрали метод внутривенного депонирования первичного сенсибилизатора (аллергена, лиганда конъюгата или компаунда) в различных буферных смесях (твин-80) и оливковом масле в различные сроки до тестирования:

от 168 до 6 ч. Аллергены инъецировали внутривенно в дозах от 3—5 мкг (низкомолекулярные сенсibilизаторы) до 500—1500—3000 мкг (конъюгаты). ККАР регистрировали с помощью иммуноморфологических и иммуногистохимических методов.

Изучали также возможность индуцирования статуса так называемой иммунологической толерантности (нечувствительности) у животных к указанным химическим аллергенам путем их депонирования внутрибрюшинно в твин-20, твин-80 и оливковом масле. Внутрибрюшинные инъекции проводили за 1, 2, 3, 5, 7 и 9 мес до сенсibilизации, тестирование — через 7, 14, 24 и 180 сут от ее начала. Регистрацию ККАР осуществляли с помощью как общепринятых методик, так и иммуноморфологических и иммуногистохимических методов, использовали гистологические (с окраской по Романовскому — Гимза, Ван-Гизону, азури-2-эозином) и гистохимические (с окраской бромфеноловым синим, по Фельгену, Браше, Маллори, Гейденгайну, Пинкусу, Пирсу, Эйнарсону, Массону, Унну — Паппенгейму, Вейгерту, Бернет — Зелигману, Бэрстону — Сабатини, Браун — Фалко, Гессу, Петцольду, Максиму, Селье и др.) методы исследования [3] биопсированных участков кожи, вовлеченных в процесс специфической альтерации; предварительно животных умерщвляли ударом по голове и обескровливали вскрытием каротидных артерий. Биоптаты кожи фиксировали в жидкости Карнуа и абсолютном спирте. С полученных гистологических препаратов (до 150—200 с каждого блока) после изучения их под микроскопом делали цветные микрофотографии (позитивная и негативная пленки фирм «Kodak», «Agfa», «Ogrosolog»), отпечатки и диапозитивы.

Мы изучали возможность неспецифической ингибиции аллергических реакций: 1) алкилирующими агентами: проспидином, цитоксаном, новэмбитолом, Ли-102, Ли-103, фотрином, дипином, новэмбихином, триспиризидином, Ли-105, Ли-108, этиленмеламином, циклофосфамидом, эндоксаном, сарколизиним; 2) антимаболизаторами: а) Ки-7, имураном; 6-меркаптопурином, 6-тиогуанином; 8-азагуанином, N⁶-аденозином и N⁶-пуринуклиозидом; б) 5-бромдезоксипурином, 6-азаурином, 5-фторурацилом, цитарабином, адамантоил-цитарабином (алексаном)-цитозин-арабинозидом; 3) венгерскими цитостатиками: винбластиним, гидроксуреа, (гидреа), (биосупрессиним), винкристином, колхицином; 4) ингибиторами клеточных ферментов: эпсилон-аминокапроновой кислотой, циклолейцином, этионином, тиенилаланином, N-диазоацетилглицинамидом; 5) антибиотиками-иммунодепрессантами: дактиномицином, хлорамфениколом, буромицином, синтомицином, азасерином, антибиотиком 1719, бруннеомицином, блеомицином, рубомицином, оливомиицином, карминомицином; 6) гормональными препаратами: деперзоном, гумакидом-28, гумакидом-39; 7) антагонистами фолиевой кислоты: метотрексатом, аминоптериним, аметоптериним.

Мы изучали также возможность ингибирования химических аллергенов альфа-2-глобулиновой фракцией и конъюгатом — лигандом: Со (NO₃)₂+цистеин (диаколб).

Методики сенсibilизации, тестирования, регистрации и статистической обработки (метод вариационной статистики), в том числе на ЭВМ «Минск-32», описаны нами ранее [3].

Результаты исследований

Изучение возможности сенсibilизации животных различными химическими аллергенами (сенсibilизаторами) и конъюгатами показало, что наиболее сильными из них являются такие, как пикрилхлорид, 2,4-динитробензол, динитрофторбензол, динитрофлюоробензол. При сенсibilизации и тестировании ими у животных возникают яркие, «классические» выраженные ККАР: визуально такие реакции регистрируются на 3,0 по [11]; бордово-красная папула 3—5 мм в диаметре, отечная, в центре иногда петехиальные геморрагии и очаги некроза. Иммуноморфологически выявлена густая инфильтрация подэпителиального слоя иммунокомпетентными мононуклеарными элементами, проникающими в эпителий и как бы «разъедающими» его, разрушающими, дезинтегрирующими; эпителий отечен, в нем многочисленные меж- и внутриклеточные вакуоли и в каждой — «пришлая» мононуклеарная клетка («спонгиоз» и «спонгиозитические глазки» [16]). Эпидермис отслоен. Сосуды глубоких слоев дермы окружены, а стенки инфильтрованы и разрушены такими же мононуклеарными элементами (так называемая мононуклеарная манжета). Менее демонстративна картина при сенсibilизации «средними» химическими сенсibilизаторами: препаратами из группы соединений мышьяка. Труднее воспроизвести в эксперименте аллергические реакции к так называемым

мым слабым химическим аллергенам: бихромату калия, азотнокислому кобальту, хлористому никелю, а также к соединениям золота и платины. Конъюгаты в этом смысле занимают промежуточное положение, временами приближаясь то к первой, то к последней группе сенситизаторов, что зависит, вероятно, от ряда причин — дозировки конъюгатов, pH-среды, качества и объема буфера, способа введения, характе-



Рис. 1. Кожа морской свинки. Химический аллергоз — экспериментальный платиноз. Контактная аллергическая реакция, вызванная соединениями платины. Замедленная аллергическая реакция. Фиксирована густая инфильтрация подэпителиального слоя дермы мононуклеарными клеточными элементами, отек эпителия и спонгиоз его, десквамация эпидермиса. Контроль. Окраска азур-2-эозином. $\times 280$.

ристики белка-носителя и др. Попытка изучения возможности индукции аллергических реакций перекрестного типа показала, что они возникают только между родственными (но не идентичными) химическими аллергенами (например, новарсенолом, с одной стороны, и сальварсаном, осарсолом, миарсенолом — с другой). Между неродственными и неидентичными сенситизаторами перекрестные аллергические реакции не возникают, что может служить соответствующим контролем [3]. Изучение возможности специфического, избирательного подавления аллергических реакций показало, что оно может наблюдаться при внутривенном депонировании химического сенситизатора в различных буферных смесях; при этом чем меньше срок между таким гипосенсибилизирующим влиянием и манипуляцией с тестированием, тем ярче процесс избирательной ингибиции; в контроле же вливание неродственного (и неидентичного) сенситизатора не вызывало ингибиции такой ККАР. При ингибирующем вливании за более длительный срок до тестирования ингибиция не возникала, либо была незначительной. Попытка получения аналогичного феномена с так называемыми слабыми химическими аллергенами также увенчалась успехом, но толерогенная доза разительно отличалась — была увеличена [4, 6], что стимулировало, очевидно, процессы индукции иммунологической памяти.

Исследования по воспроизведению феномена иммунологической «толерантности» к различным химическим аллергенам и конъюгатам показали, что таковой индуцируется наиболее ярко и полно в том случае (до 140—150 сут), если промежуток времени между толерогенной процедурой (внутрибрюшинное депонирование) и циклами сенсибилизации сокращается до 30—45 сут. В эксперименте нам удалось

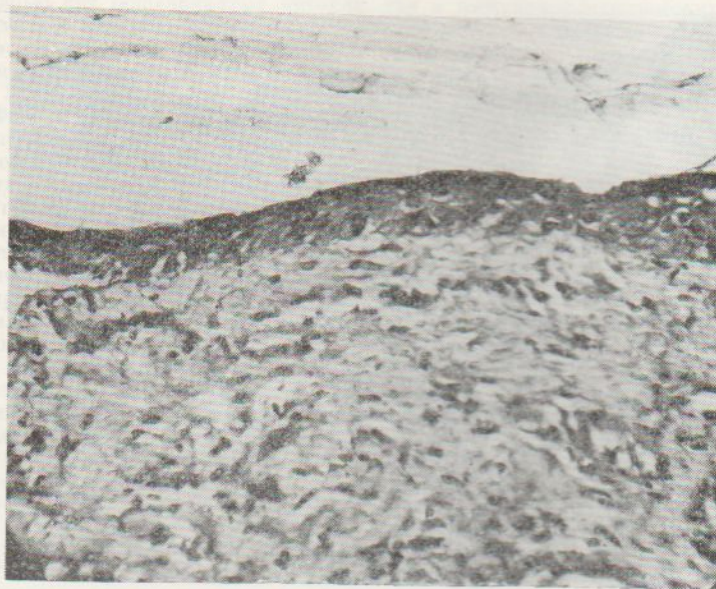


Рис. 2. Кожа морской свинки с экспериментальным платинозом. На 21 сут от начала сенсибилизации в течение 20 сут, три раза в неделю зону специфической аллергической альтерации апплицировали 3% раствором иммунодепрессанта проспидина. Фиксирована картина выраженной иммуносупрессии контактной аллергической реакции, индуцированной соединениями платины: отсутствует инфильтрация подэпителиального слоя мононуклеарными клеточными элементами, нет десквамации эпидермиса, имеются лишь отдельные незначительные участки слегка отека эпителия и остаточные явления спонгиоза эпителия.

Окраска по Гейденгайну. $\times 280$.

также воспроизвести аналогичное явление при сенсибилизации «слабыми» химическими аллергенами; однако величины депонированных толерогенных доз значительно отличались от наблюдаемых при применении «сильных» и «средних» сенсибилизаторов. Феномен такой иммунологической инертности при манипуляциях с «сильными» сенсибилизаторами был устойчив (до 72 ч и более), с конъюгатами — до 96—120 ч, с соединениями мышьяка — до нескольких недель, месяцев и даже лет [3], что весьма важно в плане лечения и предупреждения химических аллергозов и лекарственной аллергии.

При изучении возможности угнетения аллергических реакций неспецифическими способами в наших экспериментах наиболее эффективными были отечественные иммунодепрессанты Ки-7; цитостатики Ли-102, Ли-103, Ли-105, Ли-108 оказались токсичными; алкилирующий агент проспидин наиболее активно угнетал замедленную аллергию, алексан — немедленную аллергию; отечественный антибиотик-иммунодепрессант дактиномицин (синтезированный в Институте антибиотиков АМН СССР) и венгерские цитостатики винбластин и винкристин (последние оказывают сильное побочное действие — токсич-

ны) обладали выраженными иммунодепрессивными свойствами. Необходимо специально подчеркнуть, что и в клинике химических аллергозов (выход в практику) мы успешно и целенаправленно использовали одни иммунодепрессанты — для лечения немедленной аллергии (цитозин-арабинозид-алексан, например), другие — замедленной (например, проспидин) их аппликациями на кожу и слизистые



Рис. 3. Кожа предплечья человека (аутопат) — крапивница. Химический сенсibilизатор — платина. В зону специфической аллергической альтерации инсулиновым шприцем введено 0,3 мл флуоресцирующей антигаммаглобулиновой сыворотки. На снимке фиксирован значительный отек в зоне специфической аллергической альтерации, яркое свечение зоны аллергического воспаления в свете боковых ультрафиолетовых лучей. Аллергическая реакция немедленного типа.

Контактный люминесцентный микроскоп КЛМ-1. Стандартные линзы 40×40.

полости рта (метод нами описан для клинического применения у человека [3—6]). Побочные реакции при этом нами не наблюдались.

Эпсилон-аминокапроновая кислота (по 500—100 мг три раза в неделю в течение 1—2 мес) не оказывала выраженного иммунодепрессивного действия: в некоторых случаях она интенсифицировала развитие феномена Артюса у кроликов. Немедленные аллергические реакции наиболее демонстративно ингибировались алексаном, имураном, Ки-7, винбластином, винкристином, дактиномицином; гидроксису-реа (гидреа) оказалась наименее токсичным препаратом, в то же время она оказывала весьма выраженное универсальное иммунодепрессивное действие (по-видимому, гидреа блокирует не только пролиферативную реактивность *T*-, *B*- и *A*-клеток, но и процессы кооперирования между ними и их функции). Ингибирующими свойствами обладала и альфа-глобулиновая фракция. Проспидин и препараты его группы ингибировали преимущественно замедленную аллергию (рис. 1—4). Полученные результаты уже сейчас служат свидетельством принципиальной возможности регуляции реакций иммунитета и аллергических процессов неспецифическими фармакологическими агентами (ингибиторами).

Обсуждение результатов исследований

Таким образом, целесообразно, по-видимому, подразделять все химические аллергены на «сильные», «слабые» и «средние». Вероятно, в принципе возможно развитие так называемых перекрестных аллергических реакций между родственными, но неидентичными химическими аллергенами.

В то же время избирательное, специфическое угнетение аллергических реакций, вызванных химическими аллергенами, возможно пу-



Рис. 4. Кожа предплечья человека. Крапивница. Платиновый аллергоз. Зона специфической аллергической альтерации. В зону данной аллергической реакции немедленного типа инсулиновым шприцем введено 0,9 мл флюоресцирующей антигаммаглобулиновой сыворотки. Через 3 мин после аппликации иммунодепрессанта алексана. Аппликация проспирина служила контролем. Фиксирована картина резкого иммуносупрессивного влияния алексана на развитие данного типа аллергической реакции.

КЛМ-1. 40×40.

тем внутривенного депонирования сенсibilизатора до тестирования. Внутривенное же депонирование химических аллергенов и конъюгатов — лигандов (в различных буферных смесях) индуцирует развитие феномена иммунологической «толерантности». Из химических препаратов выраженное иммунодепрессивное действие оказывали отечественные ингибиторы, проспирин, Ки-7, дактиномицин и венгерские — винбластин, винкристин, гидроксуреа (биосупрессин). Японский препарат блеомицин также оказался сильным иммунодепрессантом, как и карминомицин, однако последний токсичен. Алексан угнетал преимущественно немедленную аллергию.

Апробирование нами в последнее время некоторых специальных электро- и патофизиологических методик (электромио-, электроэнцефало-, электрокардио-, реовазография), использование контактной люминесцентной микроскопии, тепловидеографии, электронной (сканирующей, растровой) микроскопии, лазерных установок в комплексе с некоторыми аллергологическими методами (базофильные тесты,

МИФ-, РТПЛ-, РТМЛ- и РОК-тесты, тест специфической деструкции клеток-мишеней клетками-киллерами, тест лимфостимуляции по Лингу, Йерне-тесты) показали, что эти методы приемлемы для идентификации степени специфической и неспецифической ингибиции химических аллергозов.

Из биохимических и цитологических ценными в этом плане оказались методики регистрации нейтраминовой кислоты в сыворотке (по Гессу), а также определение количественного содержания меченых радиоактивными изотопами моноклеаров (лимфоцитов и тимоцитов) и нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в органах центрального и периферического лимфоидного аппарата [1, 3, 4, 6].

Выводы

1. При моделировании химических аллергозов все сенсibilизаторы, по-видимому, целесообразно подразделять на «сильные», «средние» и «слабые».
2. Идентификация сенсibilизаторов и химических аллергозов наиболее эффективна при использовании некоторых высокоспецифических (МИФ-, РТМЛ-тест и др.) и инструментальных (сканирующая растровая электронная микроскопия, люминесцентные методы исследования) методик анализа.
3. Оптимальным представляется использование иммунодепрессантов, направленно (сепаратно) ингибирующих пролиферативную реактивность лимфоцитов *T*, либо лимфоцитов *B* (преимущественно), а также процессы кооперирования между клетками *T*, *B* и *A*.
4. В случае достоверного идентифицирования химического аллергена, «виновного» в индукции аллергического процесса, индукция процессов специфической гипосенсибилизации и иммунологической толерантности представляется наиболее оптимальным вариантом направленной ингибиции химических аллергозов.

Литература

1. Адо А. Д. Общая аллергология.— М., 1978.—557 с.
2. Адо В. А. Иммуносупрессия аллергозов.— Фармакол. и токсикол., 1972, № 1, с. 71—73.
3. Адо В. А. Химические аллергозы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1973.—45 с.
4. Адо В. А. Химическая аллергия.— М., 1978.—135 с.
5. Адо В. А., Горячкина Л. А. Подавление аллергических реакций низкомолекулярными соединениями.— Минск, 1971.—125 с.
6. Адо В. А., Горячкина Л. А. Профессиональная аллергия.— М., 1975.—125 с.
7. Медуницын Н. В. Замедленная аллергия к растворимым белкам: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1970.—300 с.
8. Рабен А. С., Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит.— М., 1970.—125 с.
9. Рабен А. С., Антоньев А. А. Профессиональные болезни кожи, вызываемые химическими веществами.— М., 1966.—300 с.
10. Сомов Б. А. и др. Лабораторные методы диагностики дерматозов. Тезисы докладов VI Всесоюз. съезда дермато-венерологов.— М., 1973, с. 313—314.
11. Cohen H. A. Chromium conjugates in inducing different types of allergic reactions.— *Isr. J. Med. Sci.*, 1966, 2, p. 37—51.
12. Frey J. R., De Weck A. L., Geleick H. On special inhibition of delayed contact skin-allergic reactions.— *Science*, 1964, 144, p. 853—871.
13. Landsteiner K., Chase M. W. Contact allergic reactions to simple chemical compounds.— *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, 1942, 49, p. 688—699.
14. Parker D., Aoki T., Turk J. Specific hyposensibilization of delayed allergy.— *Int. Arch. Allergy*, 1970, 38, p. 42—56.

15. Siskind G. W., Benacerraf B., Payl W. E. Some abstracts on identification of delayed type of hypersensitivity.—J. Exp. Med., 1966, 123, p. 673—719.
16. Waksman B. H. Morphological picture of allergic reactions.—J. Exp. Med., 1960, 114, p. 997—1017.

Всесоюзный аллергологический
центр АМН СССР; Аллергологическая
лаборатория АМН СССР

Поступила в редакцию
24.VII 1978 г.

V. A. Ado

MODELLING OF CHEMICAL ALLERGOSES, THEIR SPECIFIC SELECTIVE AND NONSPECIFIC INHIBITION, IMMUNOLOGICAL TOLERANCE

Summary

The possibility of experimental modelling of chemical allergoses was studied. The available data testify to the possibility of specific and selective nonspecific inhibition of allergic reactions and chemical allergoses. The problems of immunological memory and immunological tolerance has been also discussed.

All-Union Allergic Centre,
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow