

УДК 546.9:576.8.097.2

В. А. Томилец, В. И. Донцов, И. А. Захарова

### АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ НЕМЕДЛЕННОГО И ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА К СОЕДИНЕНИЯМ МЕТАЛЛОВ VIII ГРУППЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Интерес к соединениям платины и палладия обусловлен все более широким использованием этих соединений в биологии и медицине в связи с обнаружением у них противобактериального [9], противовирусного [6], и, особенно, противоопухолевого действия [5, 10]. Однако, применение в клинике соединений платины в отдельных случаях сопровождалось выраженными аллергическими реакциями [8]. Было отмечено [2], что лица, имеющие производственные контакты с платиновыми солями, значительно чаще страдают дерматитами и бронхиальной астмой. По [2] у 60—70% лиц, контактирующих с соединениями платины, через 2—3 года появляются дерматиты, а через 5—10 лет у части больных — бронхиальная астма. По [4], до 46% рабочих, контактирующих с соединениями платины, дают положительные реакции на аппликационные пробы с солями платины. Все это подтверждает необходимость изучения механизмов сенсибилизации к соединениям платины в эксперименте для выявления препаратов, обладающих минимальным сенсибилизирующим действием.

#### Методика исследований

Исследования проведены на 40 морских свинках-альбиносах, весом 150—200 г. Сенсибилизацию осуществляли однократным внутрикожным введением в бессосудистую зону уха 0,2 мл 1% раствора комплексов  $Pt, Pd, Ni, Co$ . На 21 день на депилированной поверхности спины ставили внутрикожные пробы введением 0,05 мл  $10^{-3}$  М раствора различных соединений исследуемых металлов в виде водного раствора самих солей или их растворов с белком (овальбумин). Реакцию оценивали по общепринятой методике в плюсах через 20 мин (реакции немедленного типа) и через 24 ч (реакции замедленного типа). Для количественного учета реакций плюсы были переведены в баллы, принимая один «+» за 1 балл, «+—» за 0,5, отсутствие реакции «—» за 0. О содержании реагенов крови судили по реакции пассивной кожной анафилаксии. Титр реакции определяли как последнее разведение сыворотки, еще дающее выход синьки Эванса при введении сыворотки от сенсибилизированных животных; антигеном служили растворы соединений с альбумином: 0,5 мл 0,05% раствора овальбумина, содержащего соли платины ( $K_2PtCl_4$ ) в соотношении 1:100. Для оценки гиперчувствительности замедленного типа ставили реакцию торможения миграции лейкоцитов по [1]. Результаты подвергались статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента.

#### Результаты исследований и их обсуждение

**Реакции немедленного типа.** У всех сенсибилизированных животных через 20 мин на месте внутрикожных проб отмечалось появление волдыря, достигающего в ряде случаев 4 баллов, что говорит о выраженной сенсибилизации, достигаемой этими соединениями. Из табл. 1 видно, что максимальная реакция достигается на введение комплекса овальбумина с солью металла при отсутствии реакции на сам оваль-



## Кожные реакции немедленного типа при

| № группы | Сенсибилизация                   | Внутрикожная                     |                  |                                  |                                  |
|----------|----------------------------------|----------------------------------|------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|          |                                  | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub> | PtX <sub>2</sub> | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> |
| 1        | Интактные                        | 0                                | 0                | 0                                | 0                                |
| 2        | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub> | 3,0±0,21                         | 1,0±0,29         | 0,4±0,16                         | 0,9±0,38                         |
| 3        | PtX <sub>2</sub>                 | 0,6±0,12                         | 1,8±0,14         | 0,3±0,2                          | 0                                |
| 4        | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> | 0,6±0,22                         | 0                | 2,5±0,17                         | 0                                |
| 5        | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> | 1,5±0,42                         | 0                | 1,1±0,41                         | 1,8±0,34                         |
| 6        | PdX <sub>2</sub>                 | 0                                | 0                | 0                                | 1,1±0,24                         |
| 7        | CoX <sub>2</sub>                 | 0,5±0,28                         | 0,8±0,48         | 0,8±0,23                         | 0                                |
| 8        | NiX <sub>2</sub>                 | 1,5±0,65                         | 2,0±0,41         | 1,1±0,31                         | 1,2±0,48                         |

Примечание. X—5-сульфо-8-меркаптохинолинат, ОА—овальбумин, химически связанный

бумин и гораздо меньшей реакцией на саму соль. Это совпадает с данными литературы о необходимости высокомолекулярного носителя для проявления аллергических реакций [3], тогда как один гаптен, вследствие малого молекулярного веса, вызывает чаще реакцию задержки при кожных пробах в реакции пассивной кожной анафилаксии. Реакцию на одну соль тогда следует рассматривать как результат формирования аутоносителя в организме вследствие быстрого соединения солей металла с белками кожи. В литературе имеются указания на высокое сродство соединений платины к белкам организма [7]. Успех примененного для сенсибилизации метода внутрикожного введения одного гаптена также может быть объяснен лишь формированием аутоантигена в организме при контакте с солями металлов VIII группы, так как сами по себе соли являются гаптенами и вследствие малого молекулярного веса не могут вызывать иммунного ответа.

Положительные реакции к солям некоторых других металлов VIII группы свидетельствуют о наличии перекрестной чувствительности между ними. Комплексы металлов с 5-сульфо-8-меркаптохинолинатом в качестве лиганда обладают меньшей сенсибилизирующей активностью, что, по всей вероятности, обусловлено большей прочностью связей центрального атома металла в комплексной соли с лигандом.

Таблица 2

## Реакции замедленного типа при сенсибилизации солями металлов VIII группы

| № | Сенсибилизация                   | Внутрикожная проба               |                  |                                  |                                  |                  |
|---|----------------------------------|----------------------------------|------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------|
|   |                                  | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub> | PtX <sub>2</sub> | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> | PdX <sub>2</sub> |
| 1 | Интактные                        | 0                                | 0                | 0                                | 0                                | 0                |
| 2 | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub> | 2,8±0,68**                       | 1,4±0,38*        | 0                                | 0,25±0,13                        | 0,9±0,38*        |
| 3 | PtX <sub>2</sub>                 | 1,1±0,54*                        | 2,3±0,48**       | 1,5±0,29**                       | 0,75±0,23*                       | 1,5±0,29**       |
| 4 | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> | 2,5±0,23**                       | 2,5±0,12         | 1,4±0,24**                       | 0,75±0,22*                       | 1,7±0,24**       |
| 5 | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> | 1,5±0,58**                       | 0                | 2,8±0,68**                       | 0                                | 1,3±0,34**       |
| 6 | PdX <sub>2</sub>                 | 1,5±0,29**                       | 1,25±0,42*       | 1,0±0,42*                        | 1,4±0,38**                       | 2,4±0,29**       |

Примечание: \*— $p < 0,05$  по сравнению с интактными, \*\*— $p < 0,01$ , X—5-сульфо-8-меркаптохинолинат.

Таблица 1

сенсibilизации солями VIII группы ( $M \pm m$ )

| проба            |                  |                  |                                     |                                     |                                     |
|------------------|------------------|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| PdX <sub>2</sub> | CoX <sub>2</sub> | NiX <sub>2</sub> | OA+K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub> | OA+K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> | OA+K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> |
| 0                | 0                | 0                | 0                                   | 0                                   | 0                                   |
| 0,5±0,33         | 0,3±0,1          | 1,0±0,38         | 4,0±0                               | 1,5±0,58                            | 2,4±0,45                            |
| 2,0±0,13         | 1,0±0,15         | 2,0±0,40         | 2,5±0,27                            | 1,2±0,13                            | 1,4±0,40                            |
| 0                | 0                | 0                | 0,5±0,1                             | 3,2±0,37                            | 1,2±0,37                            |
| 1,0±0,70         | 0,7±0,14         | 1,0±0,32         | 1,8±0,44                            | 1,2±0,50                            | 1,9±0,24                            |
| 1,0±0,21         | 0                | 0                | 0,7±0,24                            | 0,6±0,22                            | 1,5±0,42                            |
| 1,2±0,58         | 2,8±0,18         | 1,0±0,47         | 3,0±0,24                            | 1,0±0,41                            | 1,8±0,37                            |
| 0,8±0,32         | 1,7±0,25         | 1,8±0,48         | 2,8±0,32                            | 0                                   | 2,9±0,48                            |

с солью.

Таблица 3

Индекс миграции лейкоцитов у морских свинок, сенсibilизированных солями металлов VIII группы

| №   | Сенсibilизация                                       | Разрешающий антиген                                  | Индекс миграции, в % ( $M \pm m$ ) |
|-----|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------|
| I   | Интakтные                                            | Контроль                                             | 100,0±4,4                          |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>                     | 93,4±4,8*                          |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>                     | 92,0±4,8*                          |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub>                     | 92,1±4,4*                          |
|     |                                                      | Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> —ц | 89,1±7,1*                          |
|     |                                                      | CoX <sub>2</sub>                                     | 90,7±5,4*                          |
|     |                                                      | NiX <sub>2</sub>                                     | 93,4±4,1*                          |
|     |                                                      |                                                      |                                    |
| II  | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>                     | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>                     | 52,3±8,0                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>                     | 70,3±6,7                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub>                     | 72,3±4,0                           |
|     |                                                      | Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> —ц | 96,3±6,6*                          |
|     |                                                      | CoX <sub>2</sub>                                     | 87,0±9,8                           |
|     |                                                      | NiX <sub>2</sub>                                     | 52,0±5,1                           |
|     |                                                      |                                                      |                                    |
| III | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub>                     | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>                     | 84,1±6,6                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>                     | 28,3±3,0                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub>                     | 45,6±6,4                           |
|     |                                                      | Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> —ц | 101,2±3,1*                         |
|     |                                                      | CoX <sub>2</sub>                                     | 82,7±4,5                           |
|     |                                                      | NiX <sub>2</sub>                                     | 55,5±4,8                           |
|     |                                                      |                                                      |                                    |
| IV  | Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> —ц | K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>                     | 29,0±5,6                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>                     | 34,0±4,8                           |
|     |                                                      | K <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub>                     | 40,0±8,4                           |
|     |                                                      | Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> —ц | 10,3±3,4                           |
|     |                                                      | CoX <sub>2</sub>                                     | 53,3±6,0                           |
|     |                                                      | NiX <sub>2</sub>                                     | 60,2±7,0                           |
|     |                                                      |                                                      |                                    |

Примечание. \*— $p > 0,05$ . Для остальных  $p < 0,01$ .



В реакции пассивной кожной анафилаксии нами были обнаружены реактивные антитела к полному антигену: овалбумин, обработанный  $K_2PtCl_4$  дал титр реакции 1:64. Реакция на один гаптен была отрицательной, что согласуется с данными литературы о невозможности проявления реакции пассивной кожной анафилаксии на одни гаптены [3].

**Реакции замедленного типа.** При оценке проб через 24 ч у всех животных отмечено появление специфического инфильтрата, не обнаруживаемого в контроле у интактных животных. Инфильтрат был максимально выражен при введении той же соли, которая была использована и для сенсibilизации, однако, наблюдалась реакция и на введение других соединений исследуемых металлов (табл. 2), что указывает на явление перекрестной гиперчувствительности к этим соединениям.

Данные внутрикожных проб коррелировали с результатами исследования реакций миграции лейкоцитов. Как известно, эта реакция основана на выделении сенсibilизированными Т-лимфоцитами фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (МИФ) и хорошо коррелирует с выраженностью гиперчувствительности замедленного типа [1.] Приняв за 100% количество вышедших из капилляров лейкоцитов в контроле, мы вычисляли индекс миграции лейкоцитов в присутствии  $10^{-6}$  М различных солей металлов VIII группы как отношение вышедших клеток в опыте к количеству вышедших клеток в контроле. Для интактных животных не наблюдалось достоверного снижения индекса миграции лейкоцитов, тогда как введение специфического соединения снижало индекс миграции лейкоцитов на 48—90% (табл. 3). Введение солей того же металла, но с другим лигандом, вызывало менее интенсивное снижение индекса миграции. Еще менее интенсивное снижение индекса миграции отмечалось для солей других металлов этой же группы на 50—90%. Наличие торможения миграции соединений различных металлов VIII группы также подтверждает перекрестную гиперчувствительность к ним.

### Выводы

1. Аллергические реакции к соединениям металлов VIII группы развиваются как по немедленному, так и по замедленному типу.

2. Внутрикожные методы сенсibilизации сопровождаются формированием аутоносителя в самом организме, вследствие соединения гаптена с белками кожи.

3. Между соединениями металлов VIII группы — *Pt, Pd, Ni, Co*, существует перекрестная чувствительность, что справедливо как для реакций немедленного, так и для реакций замедленного типа.

### Литература

1. Новиков Д. К., Адаменко Г. П., Новикова В. И. Реакция подавления миграции лейкоцитов для выявления клеточно-опосредованной аллергии. Лабор. дело, 1977, № 9, с. 343—346.
2. Парро Ж., Эбер Р., Сэндел А., Руфф Ф. Платина и платиноз.— В кн.: Проблемы иммунологической реактивности и аллергии, М., 1971, с. 198—200.
3. Рабен А. С., Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит: М., 1970. 192 с.
4. Сарова М. А. Аллергические поражения при платинозе.— В кн.: Вопросы аллергии. Тез. докл. на IV республиканской конференции. Каунас, 1976, с. 199—200.
5. Cleare M., Hoeschele J. Anti-tumour platinum compounds.— Platinum metals review, 1973, 17, N 1, p. 2—14.

6. Drobnik J. Antitumor activity of heavy transition metal's complexes «against hepatoma cells».—Chem. Biol. Interact., 1975, 11, p. 605—609.
7. Hörer O. Nicolau C. Spectroscopic evidence for cis-PtCl<sub>2</sub> (NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> — erythrocyte membrane interaction.—F. E. B. S. letters, 1971, 14, p. 262—264.
8. Khan A. Hill J. M. Grater W. Loeb E. Maclellan A. Hill N. Atopic Hypersensitivity to cis-dichlorodiaminoplatinum (II) and other platinum complexes.—Cancer Res., 1975, 35, p. 2766—2773.
9. Rosenberg B. Some Biological Effects of platinum complexes.—Nature, 1969, 222, 385—410.
10. Rosenberg B. Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy.—Naturwissenschaften, 1973, 60, p. 399—406.

Аллергологическая лаборатория  
АМН СССР

Поступила в редакцию  
21.IX 1978 г.

V. A. Tomilets, V. I. Dontsov, I. A. Zakharova

#### IMMEDIATE AND DELAYED ALLERGIC REACTIONS TO GROUP VIII METALS SALTS IN THE EXPERIMENT

##### Summary

Formation of immediate and delayed allergic reactions to Pt and Pd salts in the experiment was shown using the methods of intracutaneous tests with 20 min and 24h estimation, the reaction of passive cutaneous anaphylaxis and the reaction of leukocyte migration inhibition. Cross reactions are observed to compounds of the group VIII metals studied.

Allergologic Laboratory,  
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow