

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕСТА ВЫБРОСА ИОНОВ КАЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

С ростом числа применяемых лекарственных средств увеличивается количество аллергических реакций на лекарственные препараты. Любая аллергическая реакция наносит вред здоровью больного, а в некоторых случаях является причиной смерти.

Среди терапевтических ошибок, способствовавших летальному исходу лекарственного анафилактического шока, игнорирование данных аллергологического и фармакотерапевтического анамнезов было в 43,7% случаев, а неправильная профилактика лекарственно-го шока в 6,2%(1).

За последние годы увеличивается число побочных эффектов лекарственных препаратов, что связано как с изменением реактивности больных, так и с увеличением разнообразия лекарств, а, следовательно, гаптенных детерминант. Поэтому актуальной проблемой является профилактика осложнений лекарственной терапии.

Назначая по показаниям лекарственное средство, врач обязан провести все необходимые мероприятия, делающие применение лекарственного средства максимально безопасным.

Первым этапом является сбор аллергологического анамнеза. Назначение лекарственных средств, на которые была аллергическая реакция запрещается, также исключаются лекарственные препараты, несущие сходные антигенные детерминанты (2, 5).

В неясных случаях вторым этапом является лабораторное аллергологическое обследование больного, позволяющее выявить потенциально алергоопасные для него лекарственные средства. В связи с разнообразием лекарств применение иммуноферментного анализа (ИФА) и радиоаллергосорбентных тестов (РАСТ) ограничено из-за трудности создания тест-систем на многочисленные препараты. Тем более, что аллергические реакции зависят не только от наличия антител класса IgE и IgG в крови, выявляемых в ИФА, но и от антител, связанных с нейтрофилами (IgG) и базофилами (IgE), а в ряде случаев от Т-клеточной сенсibilизации.

Ранее нами (3,4) было показано, что под влиянием аллергенов из сенсibilизированных лейкоцитов выбрасываются ионы калия. Это происходит в результате взаимодействия аллергена и антител класса IgE, связанных нейтрофилами и IgG-нейтрофилами. По приро-

сту калия в надосадочной жидкости суспензии лейкоцитов, инкубированной с аллергенами, можно судить о сенсibilизации лейкоцитов.

Целью работы явились разработка и совершенствование универсальных методов лабораторной диагностики аллергических реакций на лекарства и медикаменты.

Материалы, методы и результаты. *Обследовано 58 больных с установленным диагнозом: бронхиальная астма, поллиноз, аллергический дерматит и отягощенным анамнезом по лекарственной аллергии. Для оценки аллергологического статуса использовали суспензии лейкоцитов и растворы лекарственных препаратов. Ориентиром концентрации лекарства для использования in vitro, служила удвоенная терапевтическая концентрация лекарства в крови.*

Для приготовления растворов лекарственных аллергенов из ампульных препаратов их разводят в 1000-10000 раз. При приготовлении раствора из таблетированного растворимого лекарственного средства таблетку растирали в порошок, брали 1/10 части, а затем разводили в 100-1000 раз, как при разведении ампульных лекарственных средств.

Прямой вариант реакции. *Из отстоявшихся 5 мл гепаринизированной крови отсасывали плазму. Центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, плазму сливали в отдельную пробирку (использовали в непрямом методе), а к осадку добавляли 0,84% раствор хлорида аммония для лизиса оставшихся эритроцитов. После этого лейкоциты два раза отмывали 0,9% раствором хлорида натрия и готовили лейкосуспензию 2×10^6 клеток в 1 мл.*

Для проверки одного аллергена необходимо 0,2 мл такой лейкосуспензии. Объем необходимой лейкосуспензии готовили из расчета $V=A \cdot 0,2 + 0,4$, где V - необходимый объем лейкосуспензии в мл, A - количество исследуемых аллергенов.

Из полученной лейкосуспензии в пробирки разливали по 0,2 мл лейкоувеси на каждый аллерген и 0,2 мл на контроль. К 0,2 мл лейкоувеси добавляли 0,2 мл аллергена, а в контроль 0,2 мл 0,9% раствора хлорида натрия (контроль-1). Вторым контролем (кон-

троль-2) служил раствор 0,2 мл аллергена + 0,2 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Если он не содержал калия по данным замера на пламенном фотометре, то этот контроль не ставили. В качестве третьего контроля использовали лейкосуспензию человека без лекарственной аллергии, к порции которых добавляли аналогичные аллергены и физиологический раствор. На основании контроля-3 судили об отсутствии неспецифического цитотоксического действия аллергена на лейкоциты и выброса ионов калия. В опытах использовали концентрации аллергенов не оказывавшие токсического действия на лейкоциты.

Смеси инкубировали при 37°C в течение 30 минут, затем центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин., 0,2 мл надосадочной жидкости добавляли к 2 мл дистиллированной воды, перемешивали и определяли концентрацию ионов калия на пламенном фотометре.

Сравнивали концентрацию ионов калия в контрольных и опытных пробах. Реакция в контроле-3 (аллерген + несенсибилизированные лейкоциты донора или больного) должна быть отрицательной. Если концентрация калия в контроле-1 была равна или больше, чем в опыте, реакцию считали отрицательной. Обычно концентрация калия в контроле-1 находилась в пределах 26-78 мкмоль/л (спонтанный выброс ионов калия из лейкоцитов). Если концентрация калия в опыте была больше, чем сумма в контролях 1+2, расчет вели по формуле:

$$(СК^+_{\text{(опыт)}} - СК^+_{\text{(контроль 1+2)}}) : СК^+_{\text{(контроль 1+2)}} \cdot 100\%$$

где $СК^+_{\text{(опыт)}}$ - концентрация ионов калия в мкмоль/л в опытной пробе; $СК^+_{\text{(контроль)}}$ - концентрация ионов калия в мкмоль/л в контрольных пробах 1 и 2. Превышение калия в опыте меньше чем на 15%, по сравнению с контролями - реакция отрицательная. Увеличение концентрации калия в опыте более, чем на 20%, по сравнению с контролем указывает на сенсибилизацию к лекарственному препарату, до 20% - реакция сомнительная.

Непрямой метод. Сущность его в том, что лейкоциты здорового человека обрабатывали сывороткой больного с аллергией, и если в ней были антитела, то они связывались с лейкоцитами. Добавленный аллерген связывался с антителами и вызывал выброс калия. Лейкоциты дважды отмывали в 0,9% растворе хлорида натрия, к осадку добавляли сыворотку или плазму в объёме равном первоначальному. Смесь инкубировали при 37°C в течение 30 минут, затем дважды отмывали физиологическим раствором и готовили лейкосуспензию 2×10^6 клеток в 1 мл. Далее реакцию ставили и оценивали также, как и в прямой реакции.

Примеры:

Больной Т. - лекарственной аллергии по данным анамнеза нет. Реакция выброса K^+ отрицательная:

контроль - 34 мкмоль/л;
пенициллин - 34 мкмоль/л;
витамин B_1 - 32 мкмоль/л.

Больная Л. - лекарственная аллергия в анамнезе на антибиотики пенициллинового ряда и витамин B_1 .

Непрямая реакция выброса K^+
(с клетками больного Т.)
Контроль - 44 мкмоль/л;
пенициллин - 61 мкмоль/л, прирост K^+ на 38,6%;
витамин B_1 - 61 мкмоль/л, прирост K^+ на 38,6%.

Больная С. Аллергия в анамнезе на аспирин и анальгин.

Прямой метод.

1. Контроль – 34 мкмоль/л.
2. Аспирин – 143 мкмоль/л, прирост на 320,6% (реакция положительная).
3. Анальгин - 48 мкмоль/л, прирост на 41,2% (реакция положительная).
4. Ампициллин - 34 мкмоль/л, прироста нет (реакция отрицательная).

Больной К. Лекарственной аллергии нет (прямой метод).

1. Контроль - 63 мкмоль/л.
2. Аспирин – 68 мкмоль/л, прирост на 7,9% (реакция отрицательная).
3. Анальгин – 68 мкмоль/л, прирост на 7,9% (реакция отрицательная).
4. Ампициллин – 66 мкмоль/л, прирост на 4,8% (реакция отрицательная).

При сравнении данных анамнеза и прямого и непрямого тестов, лабораторное подтверждение аллергии совпадало в 90% случаев.

Если в ходе проверки была выявлена сенсибилизация к лекарственному препарату *in vitro*, дальнейшее его применение у данного больного запрещалось. При получении отрицательного теста на лекарственный препарат необходимо его дополнительное испытание в кожной пробе на больном.

Заключительным этапом диагностики лекарственной аллергии является проведение прик-теста или внутрикожной пробы с введением 0,02 мл терапевтической концентрации испытуемого лекарственного средства. Обязательным является параллельная постановка контрольной пробы с введением растворителя препарата. Реакцию оценивают через 30 минут и 24 часа.

В случае положительной кожной реакции с препаратом он не используется. При отрицательном результате, принимается решение о возможности применения данного препарата для лечения.

Вывод

Прямым и косвенным методами выброса ионов калия под влиянием аллергена можно диагностировать лекарственную аллергию ко всем водо-растворимым лекарственным препаратам с достоверностью 90%.

Литература

1. Лопатин А.С. "О случаях летальных исходов лекарственного анафилактического шока". Информационное письмо Министерства Здравоохранения СССР, - М., -1983.
2. Новиков Д.К. Клиническая аллергология. - Мн., - Высшая школа, -1991.
3. Новиков Д.К., Новикова В.И. Авторское свидетельство СССР № 445690 - 1974
4. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса.- Москва-Витебск,- 1996.
5. Patterson R. et all . Allergic Diseases, -Zippincott-Raven, -1997.