

УДК 612.017.3

Г.Ф. Куракин¹, И.Н. Живова¹, Н.М. Аксененко¹, Н.А. Адамова¹, К.С. Мишина¹, О.В. Волкова²

СКРИНИНГ ПАЦИЕНТОВ НА ВЕРОЯТНОСТЬ РАЗВИТИЯ АНАФИЛАКТИЧЕСКОГО ШОКА: МОЖНО ЛИ ИСПОЛЬЗОВАТЬ УПРОЩЕННЫЙ ВАРИАНТ ТЕСТА HRT?

¹Группа проекта «УМНИК» лечебного факультета ФГБОУ ВО Тверской государственной
медицинский университет Минздрава России
²Кафедра патологической физиологии ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинский
университет Минздрава России

Предпринята попытка разработки экспресс-метода прогнозирования риска развития анафилактического шока на лекарственный препарат на основе определения стимулированного аллергеном выброса гистамина из базофилов. В качестве прототипа использовался трудоемкий тест высвобождения гистамина HRT (Histamine Release Test). В эксперименте на кроликах изучалась корреляция результатов упрощенной модификации теста с результатами биопробы с аллергеном. Тест продемонстрировал значительную случайную ошибку, отсутствие диагностической значимости и каких-либо корреляций между величинами высвобождения гистамина и результатами биопробы, вследствие чего разрабатываемая методика не может быть использована для оценки риска развития лекарственной анафилактической реакции, а использованная технология не позволяет создать экспресс-метод его прогнозирования.

Ключевые слова: тест высвобождения гистамина, экспресс-диагностика, анафилактический шок, скрининг, прогнозирование риска.

PATIENTS SCREENING FOR A PROBABILITY OF ANAPHYLACTIC SHOCK DEVELOPMENT: IS IT POSSIBLE TO USE THE SIMPLIFIED VARIANT OF THE HRT TEST?

G.F. Kurakin, I.N. Zhivova, N.M. Aksyonenko, N.A. Adamova, K.S. Mishina, O.V. Volkova
Tver State Medical University

The development of risk prediction rapid method of anaphylactic shock on drug-based allergen-stimulated histamine release from basophils was attempted. As a prototype, a laborious test for the release of histamine HRT (Histamine Release Test) was used. In the rabbit experiment, the results of a simplified modification of the test were correlated with the results of the bioassay with the allergen. The test demonstrated a significant random error, the lack of diagnostic significance and any correlation between histamine release values and bioassay results, as a result, the developed technique can't be used to assess the risk of developing a drug anaphylactic reaction and the technology used doesn't render possible to create a rapid method of its prediction.

Key words: histamine release test, express diagnosis, anaphylactic shock, screening, risk prediction.

Введение

Анафилактический шок – одна из самых грозных аллергических реакций [1]. Внезапное и непредсказуемое ее развитие предопределяет высокую летальность.

Помимо этого, анафилактический шок зачастую развивается на лекарственные препараты [1], что может послужить причиной внезапного ухудшения состояния и смерти пациента при лечебной или диагностической процедуре. В связи с этим целесообразным был бы скрининг пациентов на возможность развития анафилактического шока на лекарственный препарат в лечебных учреждениях. Такой скрининг должен быть быстрым, простым в проведении и низким по себестоимости. К сожалению, на сегодняшний день возможности для такого скрининга отсутствуют в связи с тем, что многие тесты либо неспецифичны, либо дороги и трудоемки.

Ситуация осложняется и тем, что многие лекарственные препараты вызывают не аллергиче-

скую, а псевдоаллергическую реакцию, которая проявляется анафилактоидным шоком, клинически не отличимым от анафилактического. Его причиной также зачастую являются лекарственные препараты, причем широко распространенные в повседневной клинической практике – в анестезиологии и лучевой диагностике [1–2].

Действие таких веществ основано на неспецифическом, не опосредованном антителами высвобождении гистамина из тучных клеток и базофилов крови [1–2]. Соответственно, пробы, основанные на выявлении аллерген-специфических антител, не подходят для скрининга на возможность развития анафилактического шока [1].

Однако учитывая, что конечным этапом обоих видов реакций является дегрануляция тучных клеток и базофилов, скрининг может быть основан на учете реакции дегрануляции базофилов с оценкой выброса гистамина. В качестве такого метода возможно использование теста на высвобождение гистамина (histamine release test, HRT). Он используется, как

правило, только для исследовательских целей, является трудоемким [3–4]. Тем не менее допускается возможность его модификации, которая сделает его применимым и в клинике [3].

Цель исследования – модифицировать тест на высвобождение гистамина, упростив и удешевив его, для использования в качестве скрининга пациентов на вероятность развития лекарственного анафилактического шока.

Материалы и методы

Первоначально предполагалось определить для теста отрезные точки (cut-off), чувствительность, специфичность, положительное и отрицательное прогностические значения. Эти показатели являются основными характеристиками любого медицинского теста [5].

Вместо используемых в тесте НРТ серийных разведений аллергена и двух контролей использовалась одна доза аллергена и один отрицательный контроль. В качестве аллергена исследовался непосредственно испытуемый препарат, в качестве отрицательного контроля – физиологический раствор, в отличие от используемого в НРТ буфера [4]. Время инкубации сравнительно с тестом НРТ (1 час) было укорочено до 15–20 минут, так как, по предварительным расчетам, этого времени достаточно для высвобождения гистамина из базофилов крови.

Для оценки результатов реакции применен метод иммуноферментного анализа (ИФА). Для ИФА использовался микропланшетный фотометр модели ImmunoChem-2100 и наборы для иммуноферментного определения гистамина в сыворотке человеческой крови (Histamine ELISA) производства фирмы Labor Diagnostika Nord (LDN).

В эксперименте на кроликах было проведено две серии опытов. В первой из них в качестве аллергена использовался 0,5% раствор прокаина (новокаина), во второй – сыворотка лошадиная против яда гадюки обыкновенной. Анализ крови по разработанной упрощенной методике теста НРТ выполнялся трижды с интервалом в 1–2 недели. В каждой серии экспериментов использовалось 5 кроликов.

По результатам анализа рассчитывались два показателя, характеризующие высвобождение гистамина: коэффициент высвобождения (КВ) и абсолютная величина высвобождения (АВВ). Расчет данных показателей производился по формулам (1) и (2) соответственно:

$$K_v = \frac{N_{\text{оп}}}{N_{\text{контр}}}, \quad (1)$$

где K_v – коэффициент высвобождения (КВ), $N_{\text{оп}}$ – содержание гистамина в опытной пробирке, $N_{\text{контр}}$ – содержание гистамина в отрицательном контроле;

$$R_a = N_{\text{оп}} - N_{\text{контр}}, \quad (2)$$

где R_a – абсолютная величина высвобождения

(АВВ), $N_{\text{оп}}$ – содержание гистамина в опытной пробирке, $N_{\text{контр}}$ – содержание гистамина в отрицательном контроле.

После забора крови выполнялась биопроба (введение раствора аллергена кроликам). В последний день эксперимента, когда проводился анализ крови кроликов на высвобождение гистамина, вводилась разрешающая доза. Для прокаина она равнялась сенсibiliзирующей дозе (1 мл), а для сыворотки против яда гадюки – 2 мл при сенсibiliзирующей дозе 0,5 мл.

В дни, когда не выполнялся эксперимент с высвобождением гистамина, проводилась сенсibiliзация кроликов: прокаином – в течение 14 дней, сывороткой против яда гадюки – в течение 2 дней после первой инъекции.

Результаты и обсуждение

Учет результатов эксперимента показал, что только один опыт (второй опыт первой серии) согласовывался с рабочей гипотезой: КВ в нем все превышали единицу, а АВВ была представлена положительным значением числа (>0). В остальных опытах в 48% случаев КВ был менее единицы, а АВВ имела отрицательное значение. Противоположная ситуация имела место в 52% случаев. Для сравнения: в результатах, учтенных до проведения 3-й серии опытов, данные величины составили соответственно 45% и 55%. Таким образом, распределение результатов по знаку АВВ с увеличением числа результатов приближается к 1:1.

В каждом опыте, за исключением второго опыта первой серии и опытов третьей серии, соотношение случаев с отрицательной и положительной АВВ, и соответственно, с КВ меньше и больше единицы, составляло 2:3–3:2. Учитывая малый размер выборки, можно считать, что во всех опытах соотношение случаев с отрицательной и положительной АВВ, и соответственно, с КВ меньше и больше единицы также составляло приблизительно 1:1, что можно считать свидетельством того, что в данных опытах получены случайные числа. Это указывает на значительную случайную ошибку эксперимента, делающую невозможным анализ каких-либо корреляций.

В опытах третьей серии результаты с отрицательной АВВ и КВ меньше единицы резко преобладали: в первом опыте данной серии они были получены у двух кроликов из трёх, в то время как во втором опыте все результаты имели отрицательную АВВ и КВ меньше единицы.

Подобные результаты не согласуются с рабочей гипотезой, так как она предполагает, что высвобождение гистамина со стимуляцией аллергеном больше или равно таковому без стимуляции в случае отсутствия грубой ошибки и приемлемой точности эксперимента. Таким образом, присутствие подобных результатов указывает на грубую ошибку.

Дополнительные данные дала статистическая обработка полученных значений коэффициента высвобождения для каждого опыта.

В большинстве опытов первой и второй серии среднее арифметическое коэффициента высвобождения лежало в диапазоне 0,89–1,202, а среднеквадратичное отклонение во всех опытах, кроме первого опыта первой серии, находилось в диапазоне 0,14–0,23. В первом опыте первой серии среднее арифметическое коэффициента высвобождения было максимальным (1,202), а среднеквадратичное отклонение гораздо больше, чем в остальных опытах (0,727), что свидетельствует о большем разбросе результатов первого опыта первой серии. Это может быть связано с тем, что в первом опыте была допущена ошибка эксперимента, заключающаяся в двукратной заморозке/разморозке образца, что может сильно влиять на результат ИФА.

Но такой ошибки не было допущено в остальных опытах, с чем, вероятно, связаны более низкие значения среднеквадратичного отклонения коэффициента высвобождения. Результаты второго опыта первой серии, судя по статистическим показателям, не исключительны среди результатов остальных опытов. Среднее арифметическое коэффициента высвобождения в данном опыте равнялось 1,18, а среднеквадратичное отклонение равнялось 0,15, что вполне укладывается в общую картину результатов. Таким образом, наличие только значений коэффициента высвобождения больше единицы (и следовательно, только положительных значений абсолютной величины высвобождения) в данном опыте, скорее всего, случайно.

Средние значения коэффициентов высвобождения в каждом из перечисленных опытов колеблются около единицы.

В последнем опыте (с разрешающей дозой) второй серии коэффициенты высвобождения не укладываются в описанную выше картину. В 4 образцах из 5 они находятся в диапазоне 0,68–1,35 (среднее арифметическое 4 результатов 1,07), что согласуется с предыдущими результатами. Из этой общей тенденции выбивается последний образец (№ 5), где коэффициент высвобождения составил 3,01. Однако данный результат не дает возможности сделать какой-либо вывод относительно корреляции или истинности/ложности рабочей гипотезы, а лишь указывает на значительную погрешность.

В третьей серии получены несколько более устойчивые значения: среднее арифметическое КВ в первом опыте 0,9695, во втором 0,7813 при гораздо меньших, чем в предыдущих сериях, среднеквадратичных отклонениях (0,0837 в первом опыте; 0,0613 во втором опыте). В итоге в данном опыте результаты достаточно устойчиво противоречат не только рабочей гипотезе, но и предыдущим результатам.

В первой серии результаты биопробы были отрицательными (аллергическая реакция не развивалась) во всех опытах. В разрешающем опыте второй серии наблюдались аллергические реакции, самопроизвольно купировавшиеся (слабоположительная). Среди этих реакций наблюдались судорожные, диспноэтические (вероятно, бронхоспастического генеза) с цианозом, абдоминальные (непроизвольная

дефекация). Судя по ухудшению общего состояния кроликов, присутствовала также гипотония.

Можно обратить внимание, что в данных опытах распределение результатов биопробы было относительно постоянным, в то время как результаты определения высвобождения гистамина, как уже обсуждалось выше, отличались значительной вариабельностью.

В третьей серии в разрешающем опыте у кролика С1 реакция была отрицательной, у С2 – резко положительной (шок), у С3 – слабоположительной. Однако здесь, наоборот, наблюдалось постоянство в том, что КВ во всех результатах был меньше единицы, а АВВ была отрицательной, что к тому же не согласуется с рабочей гипотезой.

Можно сделать вывод, что во всех опытах были получены случайные значения КВ и АВВ, при этом не обнаруживающие никакой связи с результатами биопробы.

Выводы

В методике, запланированной как упрощение теста НРТ с целью клинической применимости в качестве скрининга, были получены результаты, не показывающие никакой корреляции между реакцией организма на аллерген и показателями выброса гистамина. Определение чувствительности, специфичности и прогностических значений не представляется возможным, так как связи между данными двумя параметрами обнаружено не было. Таким образом, разрабатываемую методику следует признать клинически неприменимой.

Вероятно, причина таких результатов кроется в используемой технологии. Следует сделать вывод, что методика НРТ не допускает столь значительного упрощения. В свете этого для скрининга на возможность развития анафилактического шока в качестве основы следует использовать другую технологию и методику. Возможно, более перспективным окажется использование других биохимических маркеров, кроме гистамина.

Благодарности

Настоящее исследование было проведено в рамках проекта программы «УМНИК» «Разработка иммунохимического экспресс-метода прогнозирования развития аллергической реакции на лекарственный препарат». Авторы благодарят ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» за финансирование проекта.

Литература/References

1. Чепель, Э. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель и др.; пер. с англ. – 5-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 416 с.

Chepel', Je. Osnovy klinicheskoy immunologii / Je. Chepel' i dr.; per. s angl. – 5-e izd. – М.: GJeOTAR-Media, 2008. – 416 s.

2. Катцунг, Б.Г. Базисная и клиническая фармакология: В 2 т. Том 1 / Б.Г. Катцунг; пер. с англ. – 2-е изд. – М.: Бином; СПб.: Диалект, 2007. – 648 с.

Katcung, B.G. Bazisnaja i kliničeskaja farmakologija: V 2 t. Tom 1 / B.G. Katcung; per. s angl. – 2-e izd. – M.: Binom; SPb.: Dialekt, 2007. – 648 s.

3. *Паттерсон, Р.* Аллергические болезни: диагностика и лечение: / Р. Паттерсон, Л.К. Грэммер, П.А. Гринбергер; пер. с англ. – М.: ГЭОТАР-МЕДИЦИНА, 2000. – 768 с.

Patterson, R. Allergicheskie bolezni: diagnostika i lečenie: / R. Patterson, L.K. Grjemmer, P.A. Grinberger; per. s angl. – M.: GJeOTAR-MEDICINA, 2000. – 768 s.

4. Histamine-Release – IBL International [Электронный ресурс] – Режим доступа. – URL: https://www.ibl-international.com/media/catalog/product/R/E/RE95000_IFU_en_Histamine_Release_V2011-08_sym2.pdf. – Дата обращения: 3.12.2016 г.

5. *Гарднер, Д.* Базисная и клиническая эндокринология. Кн. 1 / Д. Гарднер, Д. Шобек; пер. с англ. – М.: Бином, 2013. – 464 с.

Gardner, D. Bazisnaja i kliničeskaja jendokrinologija. Kn. 1 / D. Gardner, D. Shobek; per. s angl. – M.: Binom, 2013. – 464 s.

Волкова Ольга Викторовна (контактное лицо) – к. м. н., доцент, доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России; 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4. Тел. 8-905-607-09-01; e-mail: o-volkova64@yandex.ru.

УДК 617.753.2-089

В.Н. Голычев

К 35-ЛЕТИЮ СКЛЕРОУКРЕПЛЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ МИОПИИ В ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Кафедра офтальмологии ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава

В статье обобщен опыт автора в проведении склероукрепляющих операций при прогрессирующей миопии в Тверской клинике глазных болезней в течение 35 лет, дан анализ современных и более радикальных подходов к их выполнению.

Ключевые слова: прогрессирующая миопия, склероукрепляющие операции, показания, результаты.

BY THE 35th ANNIVERSARY OF THE SCLEROPLASTIC SURGERY FOR PROGRESSIVE MYOPIA IN THE TVER REGION

V.N. Golychev

Tver State Medical University

The article summarizes the author's experience in sclera-strengthening operations in patients with progressive myopia in the Tver clinic of ophthalmology for 35 years, an analysis of modern and more radical approaches to their implementation is given.

Key words: progressive myopia, sclera-strengthening operations, indications, results.

Частота миопии (близорукости) в последние десятилетия возросла и достигла в странах Европы и России 30–40%, а в Юго-Восточной Азии – 60–70% [1]. У части больных (16–18%) с высокой прогрессирующей миопией заболевание приобретает новое качество: возникает так называемая патологическая миопия, или миопическая болезнь, которая является одной из основных причин инвалидности по зрению [2].

Учитывая, что консервативные методики профилактики прогрессирования миопии оказались малоэффективными, возрос интерес офтальмологов к хирургическим вмешательствам при этом заболевании, принцип которых заключается в наложении своеобразного бандажа для предупреждения дальнейшего растяжения склеры в передне-заднем направлении миопического глаза [3].

В нашей стране первую склероукрепляющую операцию при прогрессирующей близорукости произвели в 1967 г. А.П. Нестеров и М.Б. Либен-

зон. В дальнейшем операции подобного типа стали выполняться в глазных клиниках Куйбышева, Владивостока, Новокузнецка, Ашхабада и др. городов.

В Калининской клинике глазных болезней первая склеропластическая операция произведена автором статьи в октябре 1982 года. В масштабах страны мы были явно не первыми, но и далеко не последними: находились в первой трети клиник, внедривших в свою работу данные операции. Для начала была выбрана сравнительно несложная методика Пивоварова – Приставко [4]. Причем почти все работы по изготовлению материала для трансплантации (кадаверной склеры) – получению и обработке его – выполнялись лично. Бокал склеры трупного глаза высушивался в стерильном боксе с помощью силикагеля. Перед операцией силиковысушенная склера регидратировалась на первых порах лишь в растворе антибиотика, а в дальнейшем с добавлением туда кальцитонина [5].