



Innovatív technika a gyógyszer- és vegyszer allergiák kimutatására; mononukleáris sejtek preformált (korai) IL-6 kibocsátása -Validálás

BALÓ-BANGA J. Mátyás¹,

SCHWEITZER Katalin² Lakatos Zsuzsa², RÁSKY Klára³

Sipka Sándor⁴

¹Bőrgyógyászati Osztály és Dermatoallergológiai Szakambulancia, MH-EK Honvédkórház ; ²Toxikológiai és Immunológiai Osztály , ³ Kutató Laboratórium, Diagnosticum Zrt, Budapest , ⁴Debreceni Egyetem OE Centrum Közp. Immunol. Laboratórium

(Gyógyszer) Allergen-indukálta

Mediátor-release

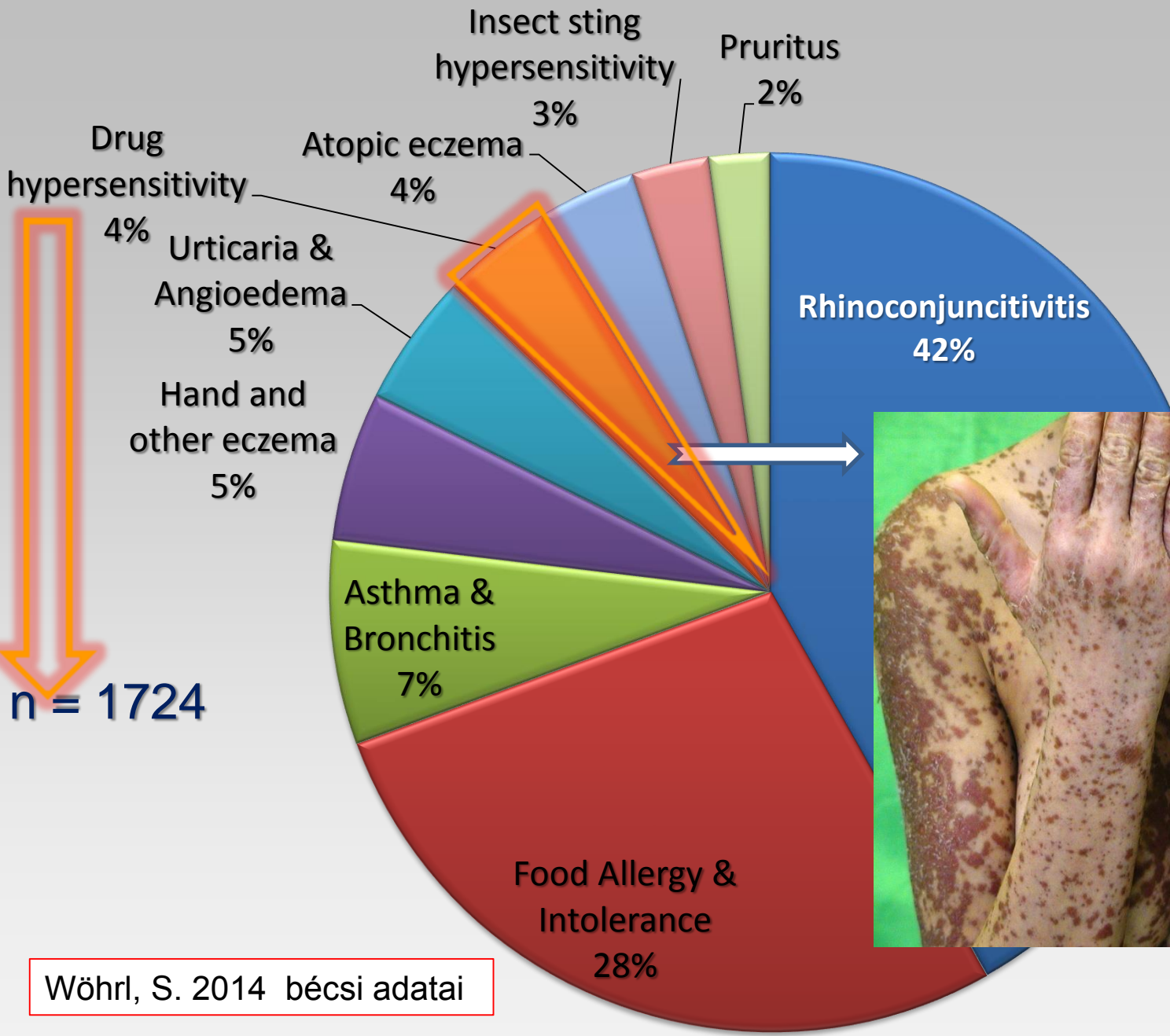
Cytokin-release

tesztek

- Hisztamin (drogok) Demoly P. et al. Allergy 1999; **54**: 500 [51] (63)
- Basophil triptáz (-.-) Monasterolo G, Rossi RE. JACI 1997; **99**: 575 [72] (57)
- CysLT (β -laktám) Lebel et al. Allergy 2001; **56**: 688 [43] (79)
- CysLT (ASA + C5a) May et al. Clin Exp Allergy 1999; **20**: 1402 [50] (99)
- IFN γ (24^h+ PHA) Halevy S és mts. Harefuah 2001; **140**: 121 [54] (92)
- IL-5 (5 nap) Sachs B et al. (10 eset) Clin Exp Allergy 2002; **32**: 736 [92] (100)
- IL-6 (<4 óra.>atka) Mc Hugh SM et al. Allergy 1994; **49**: 751 [n.a.] (n.a.)
- IL-6 (20' drogok) Baló-Banga JM és mts. (15 eset) CEEDVA Bull. 2003; **5**: 4-15

[Érzékenység]

(Fajlagosság)



Diagnoses FAZ 2013 (n=42008)



Wöhrl, S. 2014 bécsi adatai

1. tábl. A vizsgált csoportok összefoglalása





Csoportok	„Teszt A” oldal	„Teszt B” oldal
Kontroll személyek (N)	24	24
Vizsgálatok száma a kontrolloknál	50	49
Negatív tesztek „ „	48	48
Kétes és poz. eredmény kontrolloknál	2	1
Adverz esemény után vizsgált betegek (N)	98	61
Vizsgálatok száma a betegeknél	266	121
Pozitiv tesztek a beteg csoportokban	151	32
Negatív tesztek „ „	113	87
Kétes eredmények „ „	2	2
Teszt / személy / a kontrollcsoportban	2,1	2,1
Teszt / személy / a beteg csoportokban	2,7	1,9
Összes vizsgálat (N)	319	166

A tesztoldatok összetételének különbségei (100 ml-re)

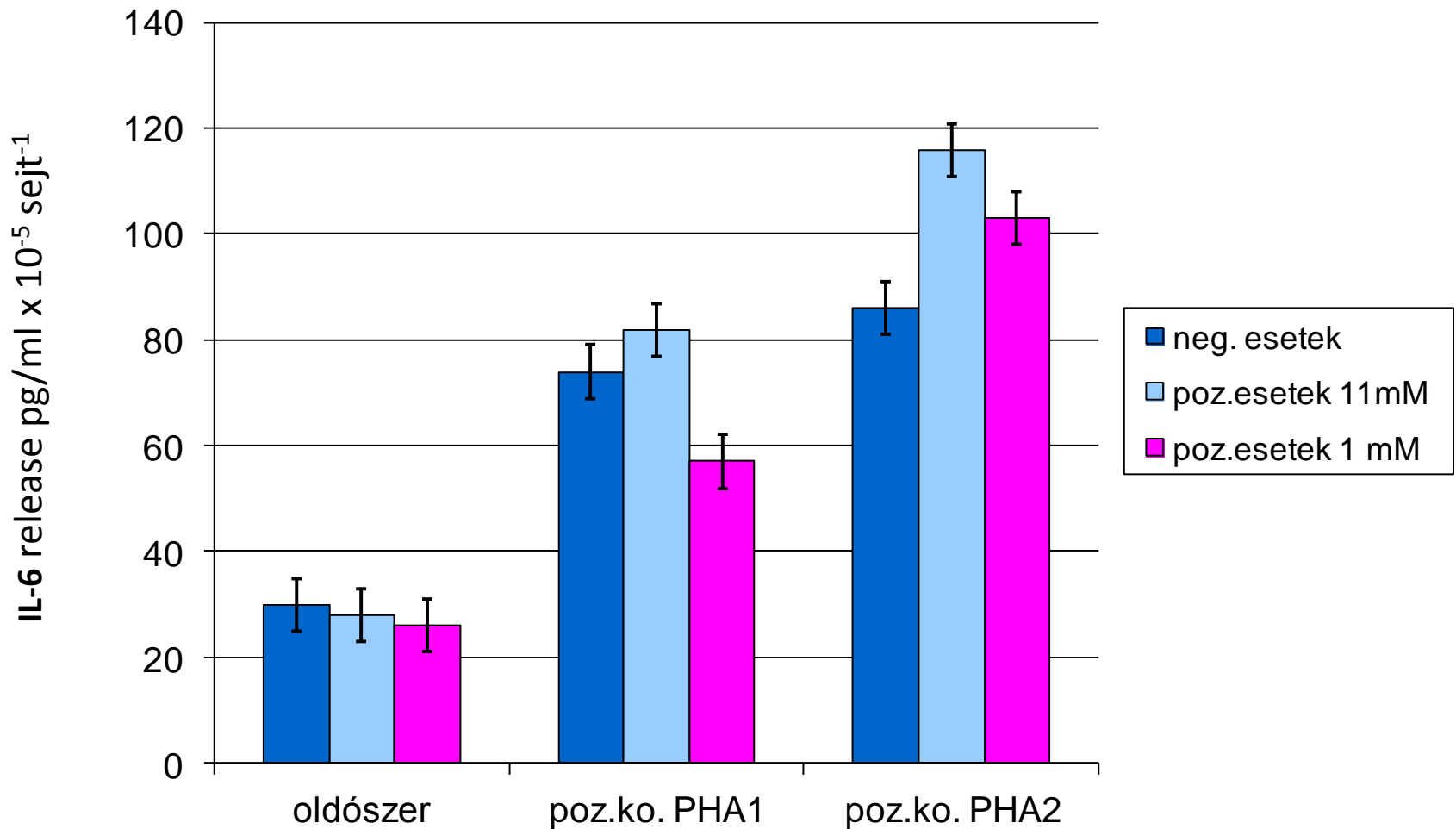
„A” oldat

- NaCl = 5,8 g
 - KCl = 1,8 g 
 - Na₂HPO₄x2H₂O = 0,6g
 - KH₂PO₄ = 0,2 g
 - CaCl₂x2H₂O = 0,09 g
 - MgCl₂x6H₂O = 0,14 g
 - D-Glukóz₁ = **0,2g [1 mM]** 
 - D-Glukóz₂ = **1,3g [7 mM]**
- végző pH = 7,2

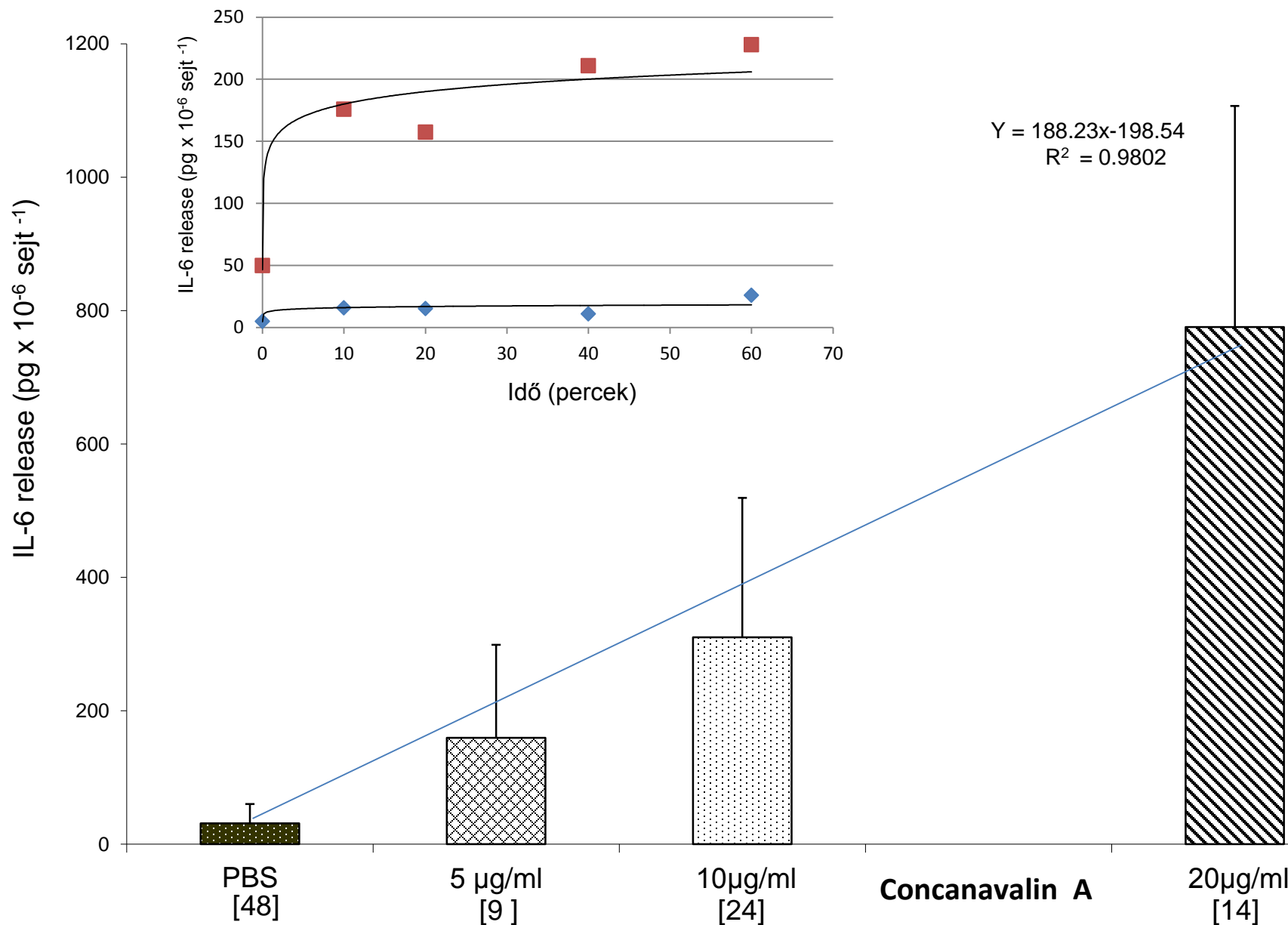
„B” oldat

- NaCl = 8,4 g
 - **KCl = 0,2 g** 
 - Na₂HPO₄x2H₂O = 0,92 g
 - KH₂PO₄ = 0,2 g
 - CaCl₂x**6**H₂O = **0,01 g** 
 - MgCl₂x6H₂O = **0,01 g** 
 - D-Glukóz = **2,0 g=11mM** 
- végző pH = 7,2

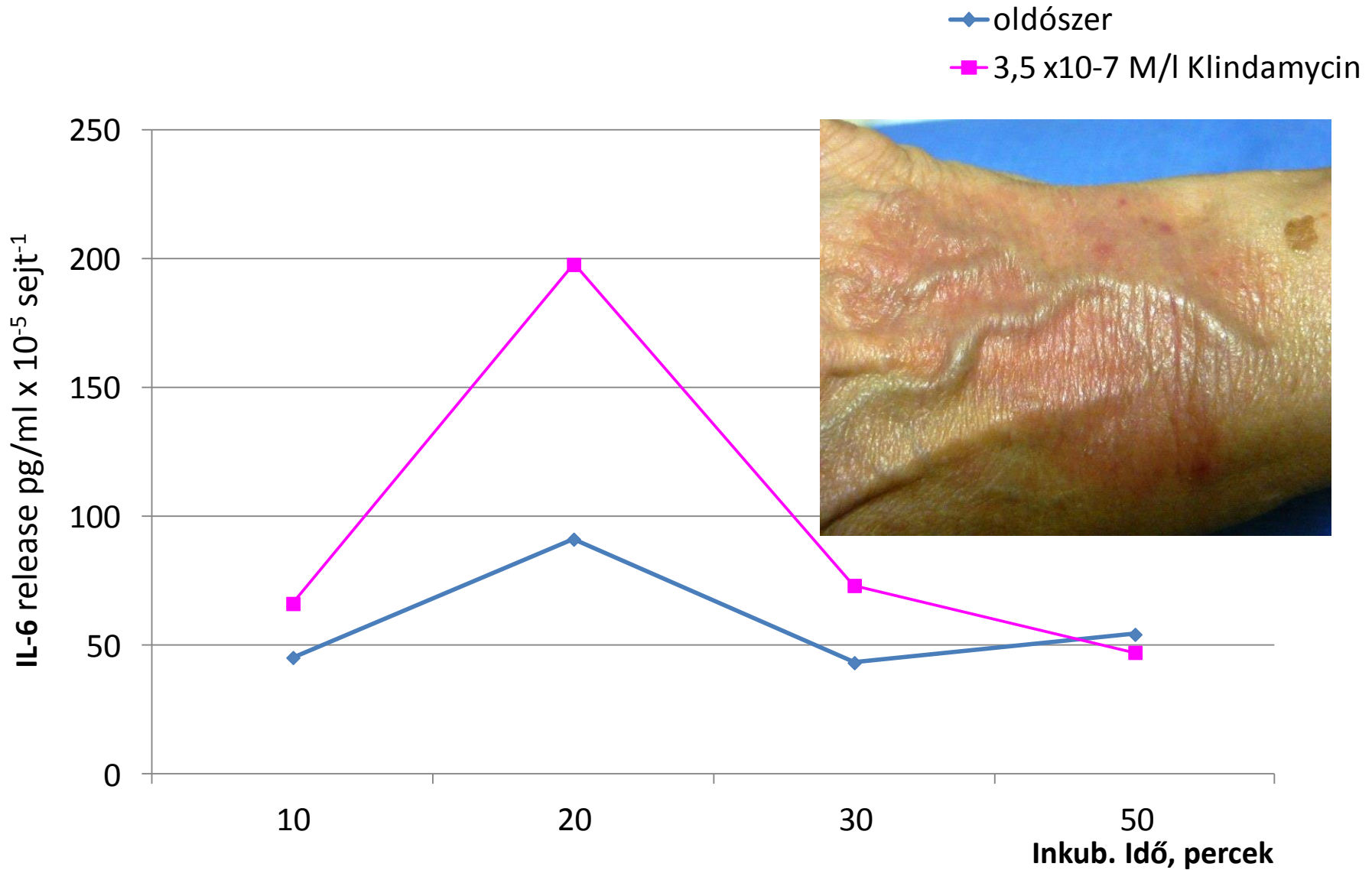
A 11 mM glukóz koncentráció hatása 10 mM Ca^{++} ; Mg^{++} mellett a PHA indukálta IL-6 kibocsátásra [20']



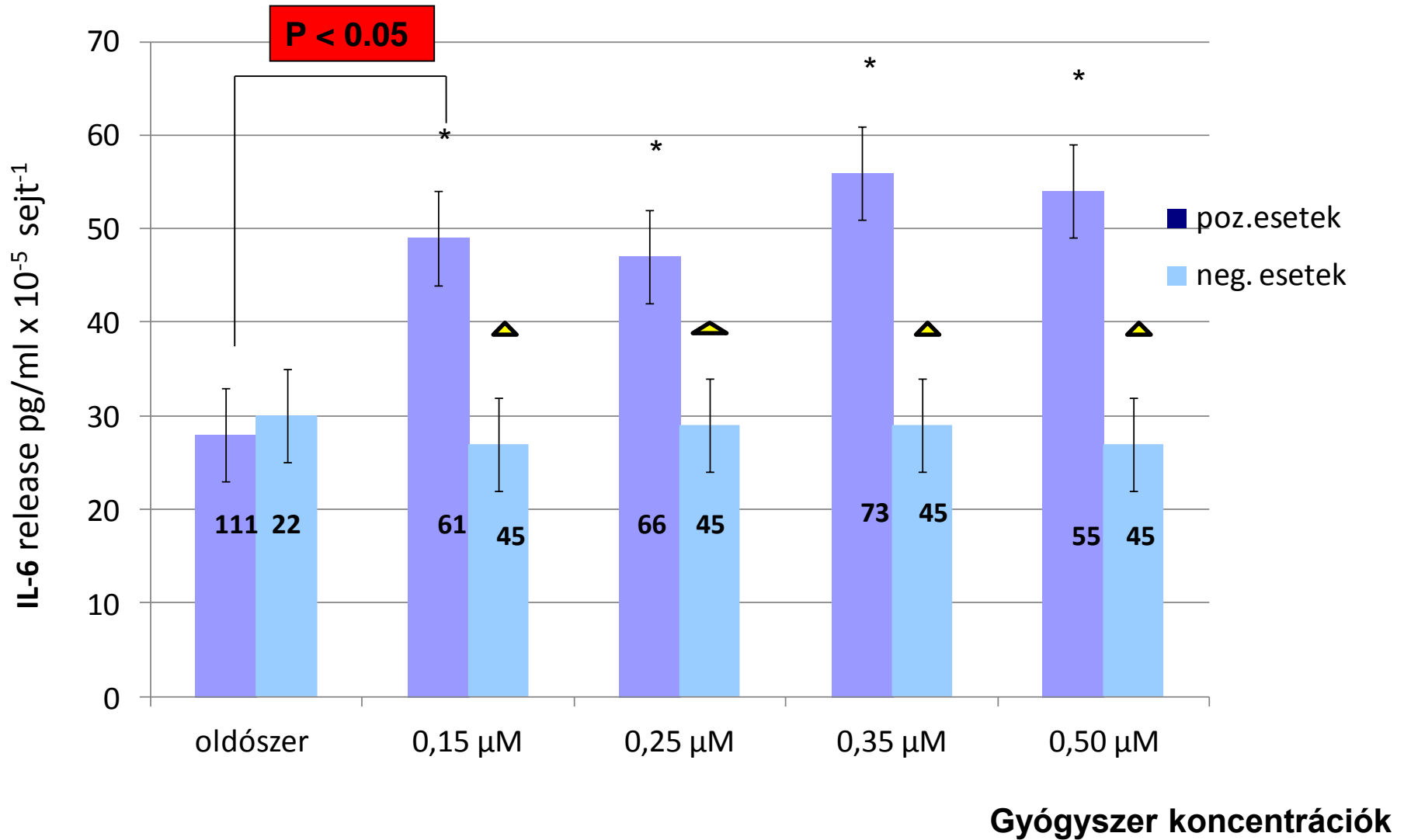
Con A hatása a betegek sejtjeinek IL-6 kibocsátására



A szenzitizáló gyógyszer-koncentráció idő függése



Gyógyszerek standard hígításai indukálta IL-6 kibocsátás a „Teszt A” oldatban

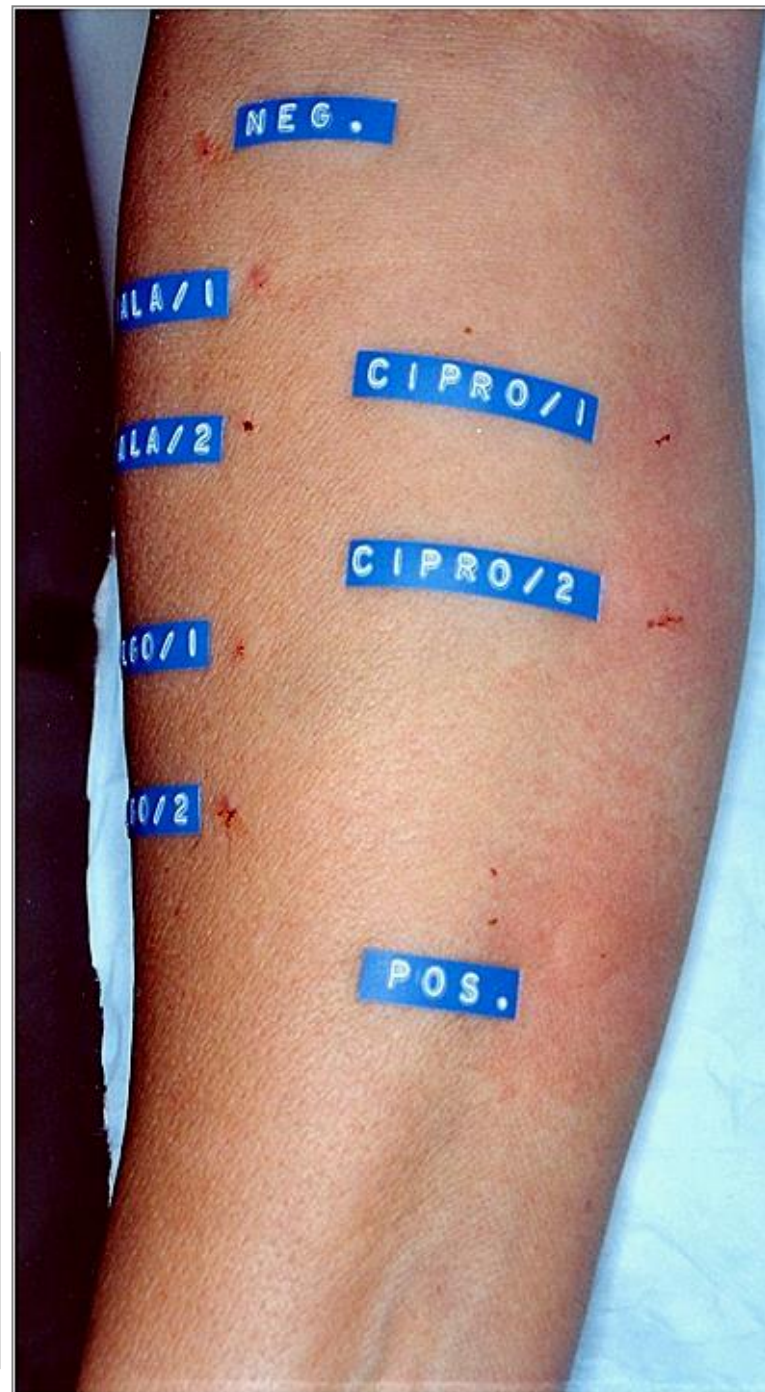


2. tábl. *In vitro* IL-6 release mérések korrelációja az *In vivo* tesztekkel a különböző inkubáló oldatok esetén

Paraméterek	„Teszt A” oldat	%	„Teszt B” oldat	%
Összes párhuzamos vizsg.	99		85	
Mindkettő negatív	42		54	
Mindkettő pozitív	41		12	
Neg. IL-6, poz. <i>in vivo</i> *	7		15	
Poz. IL-6, neg. <i>in vivo</i> **	9		5	
Szenzitivitás		85,4		44,4
Specificitás		82,4		93,1
Megbízhatóság		83,8		77,6
Pozitív prediktív érték		82		70,6
Negatív prediktív érték		85,7		78,2

* fals negatív; ** fals pozitív

*Klindam. és Ciproflox.
pozitív ($10^{-3}M$), Metamizol
negatív ($10^{-2}M$ -nál toxikus)*

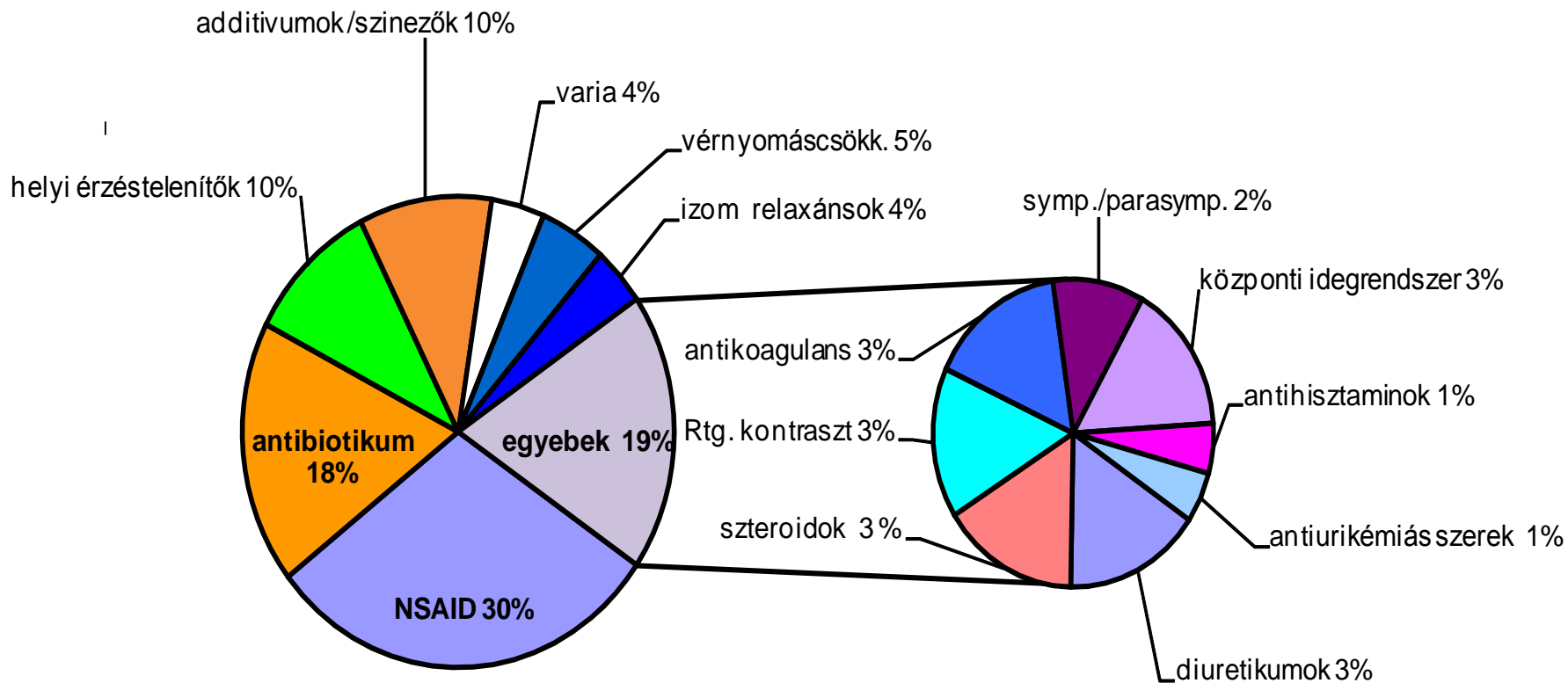


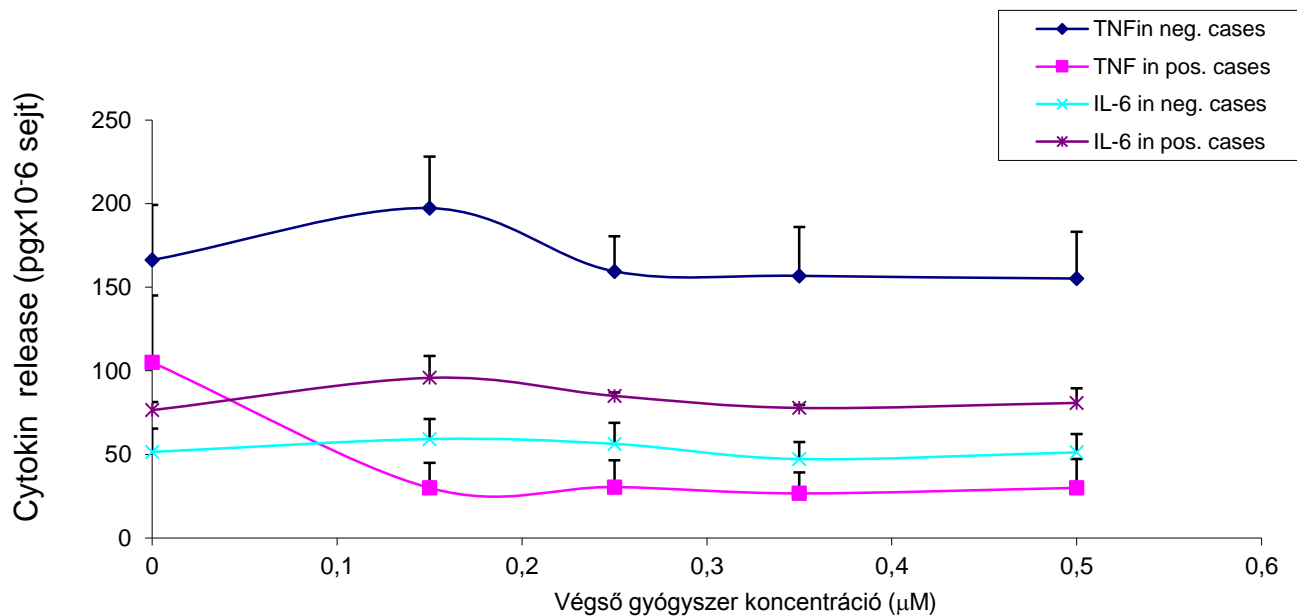
Ciprofloxacinnal végzett pozitív orális provokáció



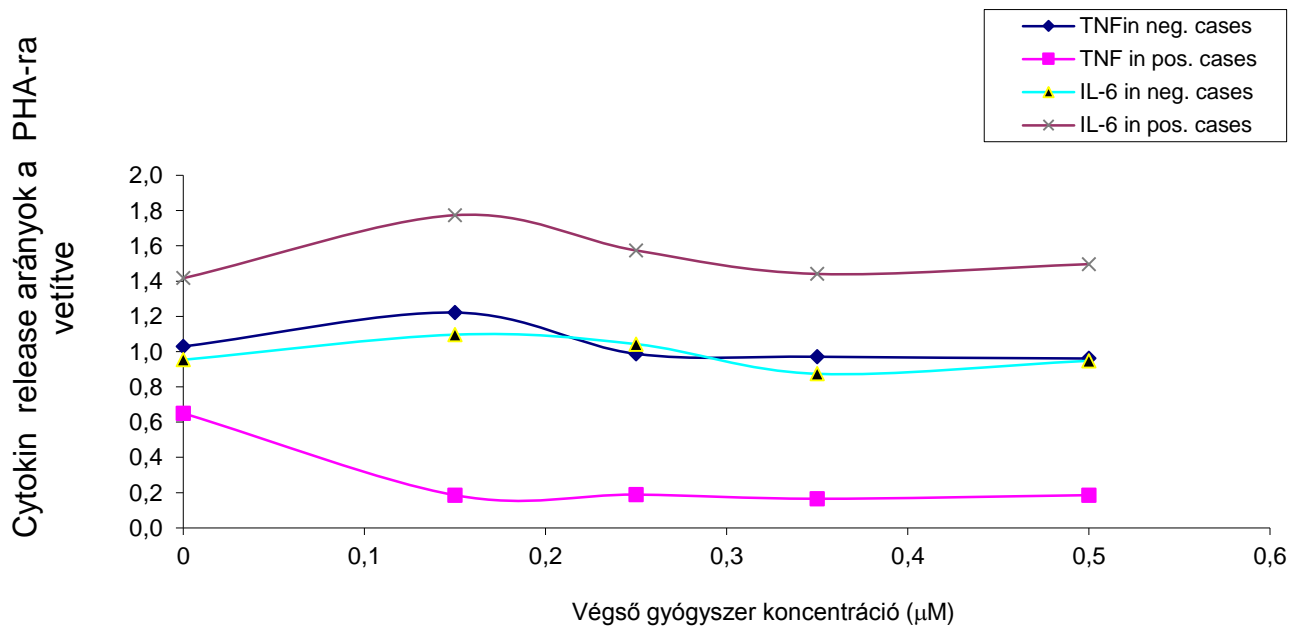
<i>Klinikai diagnózis / fenotípus</i>	<i>Csúcs 0,15μM-nál n= 37, %-os előfordulás</i>	<i>Csúcs 0,50 uM-nál n= 38, %-os előfordulás</i>	<i>2, v. több pozitív érték n= 65, %-os előfordulás</i>
Gen. urticaria± ANO	17	11	18
Syst. Anaphylaxis ± ANO	23	24	28
DRESS / kiváltó /nem-kiváltó	3	3	0
General. MPE (>18%)	14	8	20
Körülírt MPE (<18%)	6	8	5
Szóródott fix gyógyszer. kiütés	1	0	0
Erythema multiforme	0	0	2
Asthma, súlyos viszketés	1	0	0
Gen. szóródott bőrgyulladás	9	11	8
„Kisplakkos” urticaria	3	8	5
Körülírt ANO	14	18	8
Lábszár ekcéma ± purpurák	0	3	5
Körülírt hólyagok	3	3	0
Granuloma annulare centrifug. / Erythema nodosum	6	3	0

A „betegcsoportban” vizsgált gyógyszerek megoszlása

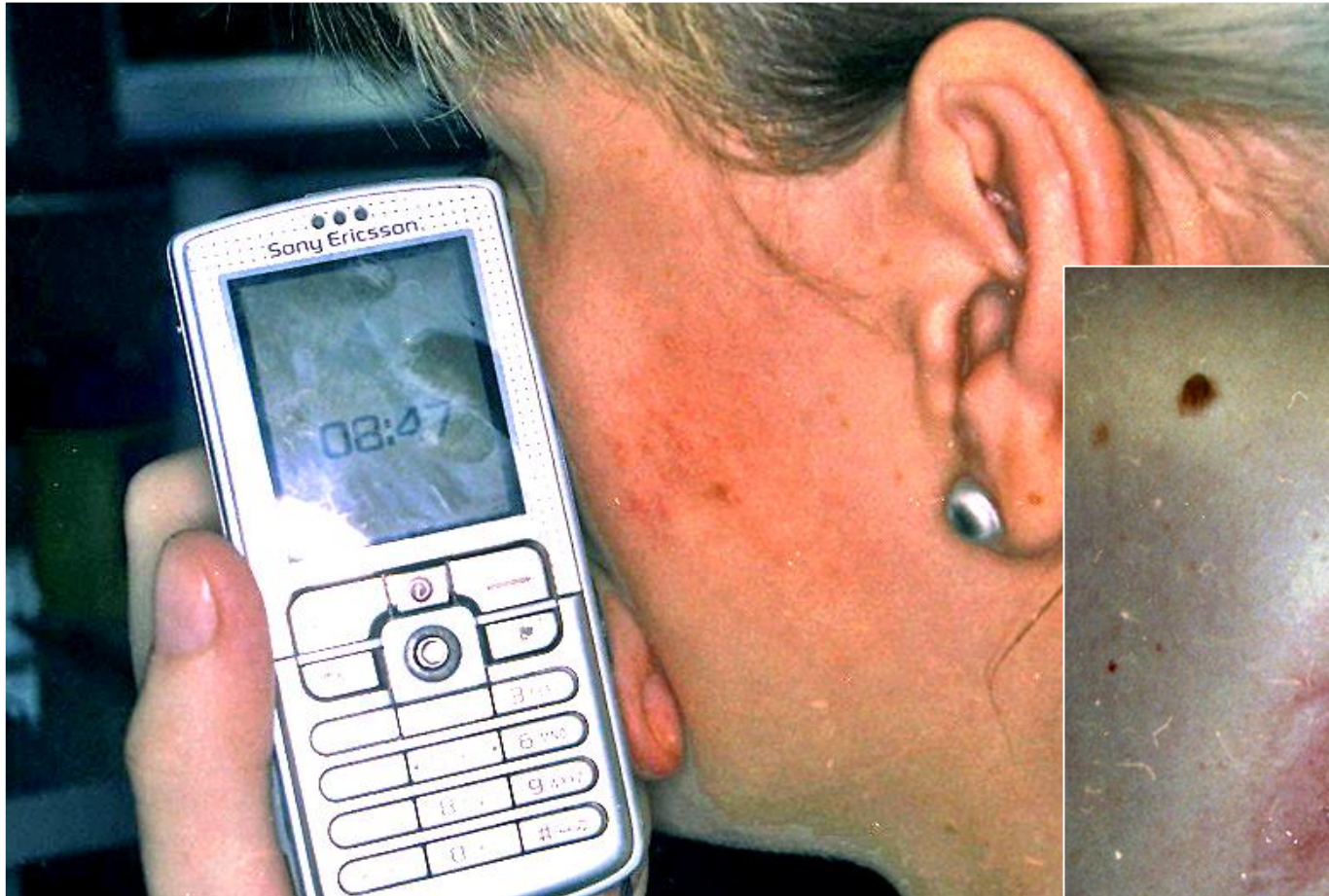




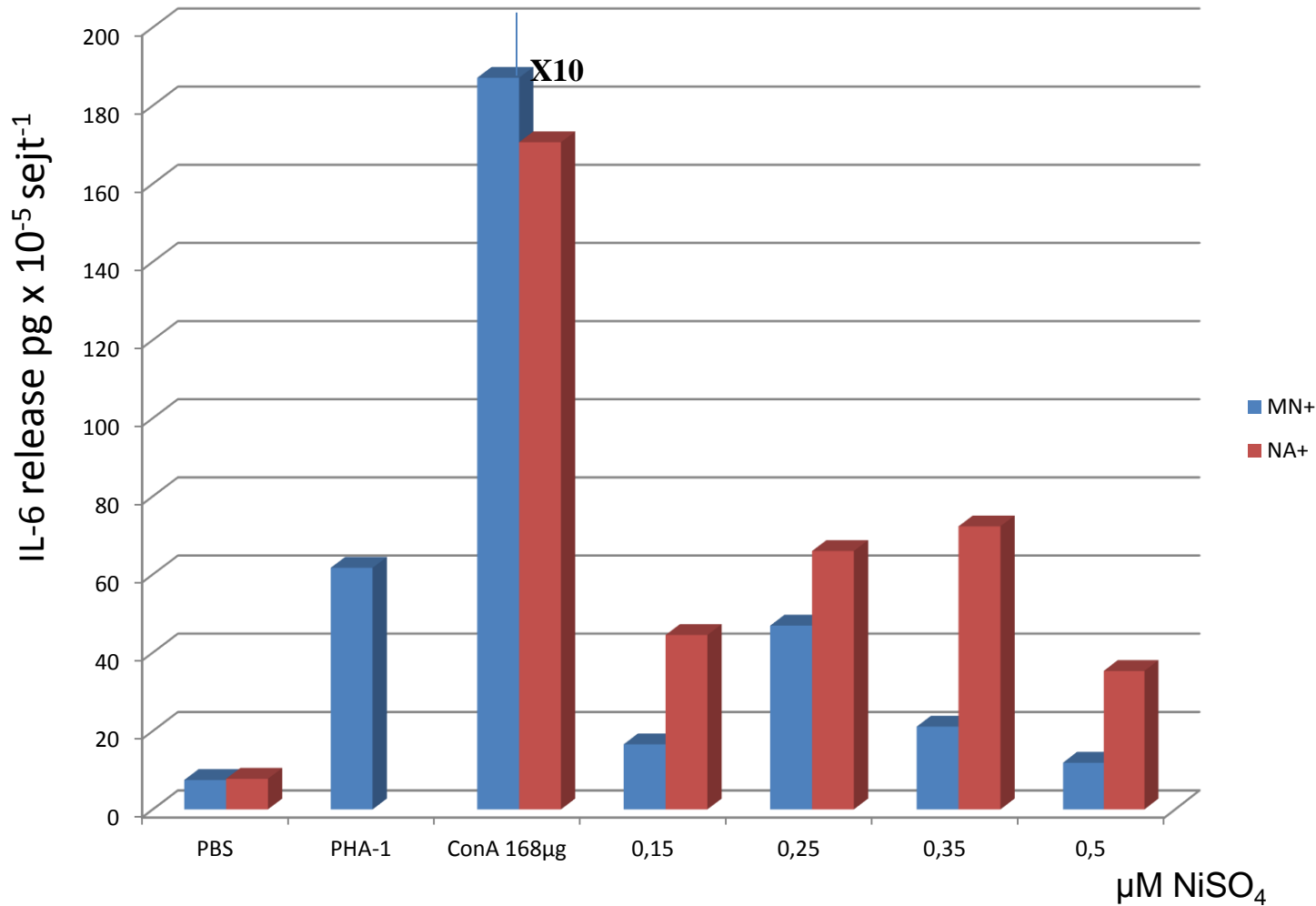
TNF α és IL-6 kibocsátás szimultán mérése a Teszt B-ben; „CBA immunobead” módszerrel – 6 neg. 4 poz. teszt összesítése alapján



Korunk jellemző allergénje:



IL-6 release mononukleáris (MN) és non-adherens (NA) sejtekből Nikkel hatására 7 érzékeny személynél - 8 vizsg. *Sipka S, Kovács I. 2011*



Phenotypes	PBMC %	NA %
CD3 +	60	73
CD56+ (NK)	24	14
CD3+CD56+	1	1
CD19+	10	4
CD3+CD4+	37	30
CD3+CD8+	10	19
CD4-CD8-	4	24

Pozitivitás: > 50% release növekedés az oldószer szintjéhez képest

Következtetések

- Az *ex vivo* mononukleáris sejtek preformált IL-6 (TNF α , IL-1, IL-10) kibocsátása mitogén és (gyógyszer, fém) allergén hatására a legkorábbi fázisa lehet a különböző allergiás reakcióknak.
- A „kulcs” esemény a molekula prezentációja
- Többszörös teszt koncentrációk szükségesek a reakciók összességének kimutatására.
- A tápfolyadék összetétele alapvetően fontos; Ca $^{++}$, Mg $^{++}$, glukóz...
- A teszt megbízhatósága az eddigi legjobbak között van.
- Ez a vizsgálat gyorsabb és a „klasszikus” LTT alternatívája lehet.



Lakatos Zsuzsanna dr.



Rásky Klára dr.



Prof. Dr. Sipka Sándor

A munkában résztevők:



Bagó Andrea dr

Fűrész Anita dr.

Lengyel Károlyné,
Eszter

Schweitzer katalin dr