

# ***Az in vivo és in vitro diagnosztikusok eljárások jelentősége a gyógyszer-túlérzékenységi reakciókban***

*Ph.D. értekezés összefoglalója*

Ónodi-Nagy Katinka M.D.

Témavezető: Bata-Csörgő Zsuzsanna M.D., Ph.D., D.Sc.

Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Szegedi Tudományegyetem



Bőrgyógyászat

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2023

### Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

- I. **Ónodi-Nagy K.**, Kinyó Á., Meszes A., Garaczi E., Kemény L., Bata-Csörgő Zs. Amoxicillin rash in patients with infectious mononucleosis: evidence of true drug sensitization. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*. 2015; 11 (1). IF: 2.283
- II. **Ónodi-Nagy K.**, Bata-Csörgő Zs., Varga E., Kemény L., Kinyó Á. Antibiotic Induced Cutaneous Rash in Infectious Mononucleosis: *Overview of the Literature*. *Journal of Allergy and Therapy*. 2015; 6 (5).
- III. **Ónodi K.**, Bata-Csörgő Zs. Gyógyszerallergia: nemzetközi konszenzus. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*. 2014; 90(4), 133–137.
- IV. **Ónodi-Nagy K.**, Kinyó Á., Németh IB., Varga E., Bata-Csörgő, Zs., Kemény, L. Allopurinol-induced adverse drug reactions: clinics and dermatopathology. *Elbírálás alatt*.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 2.283

### Egyéb közlemények:

- I. Kinyó A., **Ónodi-Nagy K.**, Varga E., Németh IB., Korom I., Gyulai R., Kemény L., Bata-Csörgő Zs. Allopurinol is the most common cause of DRESS syndrome in Hungarian patients. (supplement) *Clinical and transitional Allergy*. 2014; 4(3), P17.
- II. **Ónodi Katinka**: A gyógyszerallergiák *in vitro* diagnosztikája. Szakdolgozat, *Bőrgyászati és Allergológiai Klinika, Szeged*. 2012. Témavezető: Dr. Bata-Csörgő Zsuzsanna
- III. Jakabné J. E., Tariné P. Zs., **Ónodi-Nagy K.**, Kemény L., Bata-Csörgő Zs. A perifériás vér mononukleáris sejtjeinek analízise gyógyszerérzékenységi reakciókban. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*. 2017; 93(6), 263–263.
- IV. Jakobicz E., Palotás Zs., Kohajda M., **Ónodi-Nagy K.**, Kemény L., Bata-Csörgő Zs. Álpozitív eredményt adó gyógyszerek a limfocita transzformációs teszt (LTT) alkalmazása során. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*. 2019; 95(1), 3–7.

## 1. Bevezetés

### **Gyógyszer indukálta túlérzékenység**

Az adverz gyógyszerreakció olyan, gyógyszerhasználattal összefüggő reakció, mely veszélyt jelent a betegre, és prevenciót, további kezelést, alkalmazási módosítást és a készítmény leállítását indokolhatja. Az adverz gyógyszerreakciók 6-10%-a gyógyszer indukálta túlérzékenységi reakció. A „gyógyszerallergia” kifejezést azon esetekben használjuk, amelyek háttérében jól meghatározott immunológiai mechanizmus húzódik meg, a gyógyszerek vagy metabolitjaik fehérjéhez kötődve hapténként viselkedve allergénként funkcionálnak. A gyógyszer indukálta túlérzékenységi reakciók egy részét az immun- és gyulladásos sejteink gyógyszerfüggő, de nem feltétlenül antigénfüggő stimulálása okozza. Az immunreceptorokkal, T sejt receptor és HLA, való közvetlen gyógyszerkölsönhatásával (farmakológiai interakció az immunreceptorokkal koncepció), vagy a gyulladásos sejtek közvetlen aktiválásával enzimeken, receptorokon keresztül is kialakulhat gyógyszer-túlérzékenységi reakció.

A túlérzékenységi reakció kialakulásának háttérében összetett mechanizmusok állnak, melyek igen változatos klinikai képet eredményeznek. A gyógyszer-túlérzékenységi reakciók felosztásában segítséget nyújt az alábbi szempontok figyelembe vétele: tünetek jelentkezési ideje és a kialakulás mechanizmusa. A túlérzékenységi mechanizmusok Gell és Coombs szerinti beosztása kapcsolatot teremt a klinikai kép és a társuló immunológiai mechanizmus között, mely alapvető fontosságú a megfelelő kivizsgálási stratégia felállításában. Az immunológiai reakciók különböző mértékig keveredhetnek, a megjelenő klinikai képet a domináló mechanizmus határozza meg.

### **Diagnosztikus lépések**

Az allergológiai kivizsgálás alapja a feltételezett immunológiai mechanizmus beazonosítása. Ha az anamnézis és a klinikai kép támogatja a gyógyszer-túlérzékenység diagnózisát, *in vitro* és *in vivo* tesztek elvégzésre van lehetőségünk.

Az *in vivo* vizsgálatok közül az elsőként választandó tesztek a bőrpróbák, prick, intradermális és epicutan tesztelés. Súlyos, életet veszélyeztető reakció esetén a rizikóbecslés elengedhetetlen és ehhez kell mérni a gyógyszerallergia irányában végezhető kivizsgálást. Amennyiben a gyógyszer-túlérzékenység valószínűsége alacsony, az anamnézis nem pontos,

az eddig elvégzett *in vivo* és *in vitro* vizsgálatok nem vezettek eredményre, továbbá feltételezhető, hogy a gyógyszer metabolitja vagy genetikai meghatározottság áll a tünetek háttérben, akkor gyógyszerterhelés végzendő megfelelő óvintézkedések, kellően alacsony kezdő gyógyszer dózisok mellett.

Az azonnali típusú, IgE antitest mediálta adverz reakciókban kulcsszerep jut a hízósejtek és bazofil sejtek aktivációjának. Az azonnali típusú gyógyszer indukálta túlérzékenység diagnózisában segítséget nyújthatnak különböző *in vitro* próbák, mint a bazofil aktivációs teszt, a gyógyszer-specifikus IgE antitestek és a reakcióban résztvevő különböző mediátorok, triptáz enzim, hisztamin és leukotriének, azonosítása és mérése.

Az effektor sejtek, mediátorok vizsgálata, azonosítása lehetővé teszi a késői reakciók megfelelő kivizsgálását. Esetükben az *in vitro* tesztelés különböző próbák segítségével, a T sejt aktiváció reprodukálásán, a gyulladásszerű, sejttoxikus mediátorok azonosításán, mérésén alapul. A genetikai vizsgálatok végzése is hasznos lehet.

### **Limfocita Transzformációs Teszt**

A gyógyszer-specifikus T-sejtek proliferációjának kimutatására, a kiváltó gyógyszer azonosítására alkalmas *in vitro* diagnosztikus próbák közül a limfocita transzformációs teszt (LTT) ítéltető az egyik legmegbízhatóbbnak. A próba szenzitivitása korlátozott bizonyos esetekben, ezért további vizsgálatok szükségesek a teszt szélesebb körű alkalmazásához, specificitásának és szenzitivitásának javításához. Az irodalmi adatok szerint a vizsgálat általános szenzitivitási értéke 56,1%, specificitási értéke 93,9%.

Korábbi munkánk, a szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán készült szakdolgozatomban során az LTT megbízhatóságát vizsgáltuk a gyógyszer-túlérzékenység diagnózisában. Az elvégzett tesztek feldolgozása segítségével meghatároztuk, hogy mely gyógyszerek játszanak leggyakrabban szerepet a gyógyszer kiváltotta hiperszenzitivitási reakciók kialakításában. 2005 januárja és 2007 januárja között 4754 db LTT próbát végeztünk klinikánkon. Ezen periódus alatt 438 különböző gyógyszer érzékenység kiváltó szerepét vizsgáltuk. 2009 januárja és 2011 januárja között 4964 db tesztet végeztünk, 783 különböző gyógyszerrel. A legtöbb gyógyszer kiváltotta túlérzékenységi reakció okaként mindkét periódusban a penicillin származékok, a metamizol nátrium, acetilszalicil sav és diklofenák

gyógyszerek szerepe merült föl. Ez a sorrend annak ellenére sem változott, hogy a második periódusban 230 új hatóanyaggal is történt tesztelés.

A pontos klinikai anamnézissel rendelkező betegeinknél megvizsgáltuk a pozitív és negatív teszteredmények korrelációját a megjelenő tünetekkel, kiváltó gyógyszerekkel. A 2010-es évben végzett vizsgálataink alapján úgy találtuk, hogy a legtöbb pozitív LTT eredmény a generalizált maculopapulózus bőrtünetek miatt kezelt betegeink körében jelentkezett. Az észlelt alacsony pozitivitási érték, 10%, oka a több esetben megbízhatatlan kórtörténet. A gyógyszer okozta adverz reakciók gyakori klinikai megjelenési formái a maculopapulózus gyógyszerreakción túl a következők voltak: angiooedema, anaphylaxiás reakció, urticaria, vasculitis, granulomatózus jellegű panniculitis és fix gyógyszerexanthema. A fent említett tünetek hátterében a metamizol nátrium, diklofenák, acetilszalicil sav, penicillinek, allopurinol, ibuprofén, metoprolol, ramipril, perindopril, alprazolám és lidokain gyógyszerek oki szerepét vizsgáltuk. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy az LTT alkalmas gyógyszer-túlérzékenységi reakciók vizsgálatára, a kiváltó gyógyszer azonosítására. A fals pozitív eredmények ritkák, habár az átlagos negatív prediktív és szenzitivitási érték relatíve alacsony. Szeretnénk kiemelni, milyen fontos, a klinikai tünetek sokrétűségének figyelembe vétele és a pontos anamnézis az *in vitro* LTT vizsgálatok eredményeinek helyes értelmezésében.

### **Rizikótényezők: monucleosis infectiosa és hyperurikémia**

A mononucleosis infectiosa, röviden mononukleózis vagy Pfeiffer-féle mirigyláz egy ismert fertőző betegség, mely főként serdülőket és fiatal felnőtteket érint. A betegség hátterében vírusinfekció áll, elsősorban humán  $\gamma$ -herpesz vírus, az Epstein-Barr vírus (EBV) vagy humán  $\beta$ -herpesz vírus, a citomegalovírus (CMV). A fertőzés során testszerte, maculopapulózus bőrtünetek jelentkezhetnek, melyek gyakran összefolyóvá válnak. Erythema multiforme megjelenése rendkívül ritka, bár lehetséges. A bőrtünetek kialakulhatnak a vírusfertőzés miatt, ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a fennálló infekció fokozza a gyógyszerallergia rizikóját, és ezek a betegek gyakran kapnak antibiotikumot.

A mononukleózisban létrejövő maculopapulózus „rash” késői típusú hiperszenzitivitási reakció, mely hátterében az aktivált Th2 sejtek IL-4, IL-5 és IL-13 termelése által indukált eozinofil gyulladás áll. B-sejtek által termelt IgE és IgG4 szekréció kísérheti a reakciót, összekapcsolva ezzel a késői típusú túlérzékenységet az azonnalival.

A húgysav a purin metabolizmus lebontási végterméke az emberben, mely normál esetben naponta a vesén keresztül eliminálódik. Ha mennyisége a normál szérum szintet meghaladja, hiperurikémiáról beszélhetünk. A köszvény egy gyakori ízületi gyulladáson megbetegedés, melynek követése során a szérum húgysav szint ellenőrzése elengedhetetlen, ugyanakkor ez nem elégséges a diagnózis felállításához. A hiperurikémia mérsékelten emeli a szív- és érrendszeri megbetegedések és az általuk okozott halálozás, valamint a stroke kialakulásának valószínűségét. Az irodalmi adatok megoszlanak abban, hogy hiperurikémia független vagy nem független rizikótényezőként szerepel e. További tanulmányok hívták fel a figyelmet a húgysavcsökkentő gyógyszerek, elsősorban az allopurinol kardioprotektív hatására köszvényes és cukorbetegekben. Az allopurinol, mely hatását a húgysavszintézis csökkentésével éri el, széles körben alkalmazott gyógyszer. Használata a 2005-ös években került előtérbe az említett szívvédő hatásának eredményeképp.

Az allopurinol indukálta hiperszenzitivitási reakciók előfordulása Magyarországon adataink szerint 2009 óta megnövekedett a hyperurikémia miatti túlzott gyógyszerfelírás következtében. A tünetekért a gyógyszer és aktív metabolitja, az oxipurinol felelős. A magas kezdődózis, az életkor, bizonyos társbetegségek és az egyidejűleg alkalmazott vízhajtók, valamint a HLA-B\*B58:01 allél jelenléte befolyásolhatja az allopurinol indukálta adverz reakciók kialakulását. A túlérzékenységi tünetek néhány héttel az allopurinol terápia beállítása után jelentkeznek. A tünetekben relapszus előfordulhat a gyógyszer abbahagyása után is.

## 2. Célkitűzések

- I. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a mononukleózisos betegek antibiotikum kezelést követően kialakult bőrtüneteit, hogy ugyanezen betegcsoportban valódi túlérzékenység kialakult e penicillin vagy más antibiotikummal szemben.
- II. Vizsgáltuk továbbá az allopurinol indukálta hiperszenzitivitási reakciók klinikai és kórszövettani jellemzőit a kórkép mihamarabbi diagnosztizálása céljából, valamint a tünetek megelőzéséhez segítséget nyújtó adatok azonosítása érdekében.

### 3. Anyagok és módszerek

#### *I. Vizsgálat: mononucleosis infectiosa és gyógyszer-túlérzékenység*

##### **Betegek kiválasztása**

A Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján a 2002 és 2012 között kezelt betegek közül tíz, 15 és 35 év közötti, generalizált maculopapulózus bőrtünet miatt észlelt fiatal felnőttet (5 férfi és 5 nő, átlagéletkor 22,9 év) választottunk ki további kivizsgálás céljából. Betegünknel a fizikális és rutin laboratóriumi vizsgálatokon, garatváladék-tenyésztésen túl, vírus szerológiai vizsgálatok, specifikus IgM és IgG antitestek, segítségével EBV infekció fennállását igazoltuk. A betegek mindegyike a bőrtünetek megjelenése előtt antibiotikum kezelésen esett át. Mind amoxicillin/klavulánsav antibiotikum terápiát alkalmaztak, 2 esetben a penicillin mellett klaritromicin vagy cefixim gyógyszert is kaptak a betegek. Tekintettel a bőrtünetekre súlyosságára, a RegiSCAR csoport ajánlásával készült differenciál diagnosztikai kritériumrendszer segítségével kizártuk a gyógyszer hiperszenzitivitási szindróma fennállását.

##### ***In vitro* vizsgálatok: limfocita transzformációs teszt**

A gyógyulást követően 1-1,5 hónappal a kiválasztott 10 betegünknel *in vitro* vizsgálatot, limfocita transzformációs tesztet végeztünk. Az ilyen típusú vizsgálat célja a gyógyszer-specifikus T-sejt proliferáció meghatározása, a vizsgált gyógyszerrel szemben kialakult érzékenység bizonyítása. Az LTT vizsgálatot az irodalmi ajánlásoknak megfelelően végeztük, legkevesebb módosítással a metodikában. A beteg perifériás véréből limfocitákat szeparáltunk, melyeket a gyanúba vett gyógyszerek különböző koncentrációinak jelenlétében, esetünkben amoxicillin, amoxicillin/klavulánsav, penicillin és cefixim jelenlétében (100 µg/ml és 10 µg/ml hígításokkal) inkubáltunk. A tenyészetben a sejtek blasztos átalakulása következik be. A 72 órás inkubálást követően MTT reagenst (MTT: 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolium-bromid) adunk az oldatokhoz. Ezt a tetrazólium-sót az élő sejtek, intracelluláris enzimjeik segítségével, lila formazán kristállyá alakítják. A sejtek növekedését kolorimetriás próba, spektrofotométer segítségével mértük. Az eljárás során negatív kontrollként a spontán blasztosodást, míg pozitív kontrollként a fitohemagglutininnal (PHA) stimulált sejt kultúra

szolgált. Az eredményt akkor tekintettük pozitívnak, amennyiben a stimulált limfocitatenyészetben a blasztosodás mértéke legalább kétszerese volt a negatív kontrollénak.

### ***In vivo* vizsgálatok: bőrpróbák**

Penicillin gyógyszerrel bőrpróbákat végeztünk 6 olyan betegünkénél, akiknél amoxicillin gyógyszerrel az *in vitro* LTT vizsgálat negatívnak bizonyult. A másik 4 beteg nem egyezett bele a további *in vivo* kivizsgálásba. Prick, intradermális és epicután vizsgálatokat végeztünk a Diater Laboratorios, Penicillin allergenic determinants (DAP) ® tesztjének ajánlása szerint, a penicillin fő antigénjeivel: benzilpenicilloil-poli-L-lizin (PPL), minor determináns mix: nátrium-benzilpenicillin, benzilpenicilsav, nátrium-benzilpenicilloát (MDM). A gyártó által megadott vizsgálati protokollt követtük. A bőrvizsgálatokat a major determinánssal kezdtük. Ha a különböző hígításokkal végzett prick tesztek negatívak voltak, a vizsgálatot az intradermális próbával, majd az epicutan teszteléssel folytattuk. Minden egyes prick és intradermális próbát 20 perc elteltével leolvastunk. A késői típusú reakciók kimutatására a tesztek eredményeit 24, 48, 72 és 96 óra elteltével is értékeltük. Az epicutan próbát a hát felső részén Curatest® kamrákkal (Spiromed Kft.), vazelin és a porított gyógyszer 1:1 arányú keverékével végeztük. A tesztet 48, 72, 96 óra és 7 nap elteltével értékeltük. Bár a mononukleózisban fellépő bőrtünetek elsősorban késői típusú reakciók, azonnali leolvasást is végeztünk, mivel a kórelőzmény nem mindig megbízható, előfordul, hogy a betegek késői tünetekről számolnak be, amelyek valójában azonnaliak.

## ***II. Vizsgálat: hiperurikémia és gyógyszer-túlérzékenység***

### **Limfocita Transzformációs Teszt**

335 feltételezett allopurinol-túlérzékenységben szenvedő beteget 2002 januárja és 2017 januárja között limfocita transzformációs teszttel vizsgáltunk a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján. Az *in vitro* próbát a gyógyulást követően 1-1,5 hónappal végeztük. A vizsgálat célja a gyógyszer-specifikus T-sejt proliferáció meghatározása, a vizsgált gyógyszerrel szemben kialakult érzékenység bizonyítása, amely metodikájáról előzőleg részletesen írtunk.



## **Gyógyszerallergia: tünetek és kórtörténet**

Az allopurinol indukálta hiperszenzitivitás megbízható diagnosztizálására a nemzetközi ajánlás útmutatásait követtük a tünetek és a kórtörténet feltérképezése során. az LTT vizsgálat értékelésével kiegészítve. A gyógyszer-túlérzékenység diagnosztikus lépéseire vonatkozó ajánlások betartásával 37 esetben azonosítottuk az allopurinolt, mint kiváltó gyógyszert. Tekintettel a bőrtünetek súlyosságára, a RegiSCAR csoport ajánlásával készült differenciál diagnosztikai kritériumrendszer alkalmaztuk a DRESS szindróma azonosítására vagy kizárására. Minden esetben teljes körűen feldolgoztuk a beteg kórtörténetét, beleértve az életkort, a nemet, a tüneteket, a farmakológiai anamnézist és társbetegségeket, valamint a rutin vér- és egyéb vizsgálatok eredményeit. Az allopurinol okozta adverz reakciók kockázatának tanulmányozására a társbetegségekkel összefüggésben a van Walraven Elixhauser és a Charlson-Romano komorbiditási indexből választottunk ki kórképeket. A statisztikai szignifikanciateszteléshez Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztunk az R Studio szoftver segítségével. A kezelési eljárásunkat is rögzítettük.

## **Szöveti vizsgálatok**

Az allopurinol által kiváltott adverz reakciók szövettani jellemzőinek vizsgálata céljából bőr biopsziás mintavétel történt, punch vagy excisionális technikával. A mintavételt követően elkészített metszeteket különböző hisztokémiai festések és direkt immunfluoreszcencia (DIF) segítségével vizsgáltuk. A rutin hematoxilín-eozin festés mellett az alábbi speciális festéseket alkalmaztuk a szükséges esetekben: PAS, E-PAS, PAS-AK, PTAH, berlini kék, alcian kék, kongó vörös, Fontana-Masson, Gram és Verhoeff-van Gieson festés. CD1a, CD20, CD34, CD45 és CD68 segítettek bennünket az immunhisztopatológiában. A DIF vizsgálat során különböző immunglobulin izotípusok, például immunglobulin A (IgA), immunglobulin G (IgG) és immunglobulin M (IgM) és komplement fehérjék, mint a C3c jelenlétét vizsgáltuk a mintákban. A vizsgálatok klinikánk dermatopatológiai részlegén a rutin diagnosztikai eljárásunk részeként történtek.

## **HLA asszociáció**

HLA-B\*58:01 allél vizsgálatunkat nyolc igazoltan allopurinol allergiás betegünkönél végeztük a kontroll csoportban nyolc egészséges, allopurinol kezelést korábban nem kapott

egyén vizsgálata mellett. Minden vizsgálatban résztvevő személy a kaukázusi nagyasszba tartozott. A HLA-B\*58:01 allél kimutatását perifériás vérmintából DNS-tisztítással (QIAampR genomiális DNS- és RNS-kitek), majd valós idejű polimeráz láncreakciós amplifikációval (RT-PCR) és reverz hibridizációval történt a Pharmigene Inc. PG5801 Detection Kit segítségével.

#### 4. Eredmények

##### *I. Vizsgálat: mononucleosis infectiosa és gyógyszer-túlérzékenység*

A klinikánkon 2002 és 2012 között 10 fő mononukleózis mellett megjelenő maculopapulózus tünetek miatt kezelt betegünkénél (átlagéletkor 22,9 év) folytattunk gyógyszerallergia kivizsgálást. Minden beteg antibiotikumot szedett a bőrtünetek megjelenése előtt. A tünetek néhány nappal az antibiotikum-terápia megkezdése után alakultak ki. A morbilliform bőrtünetek a súlyosabb esetekben a törzsön összefolyóvá váltak. A szövettani vizsgálat a hematoxilin-eozinnal festett metszeteken a bazális keratinocyták hidropikus degenerációját, a kiserek körül néhány eozinofil sejtet tartalmazó gyulladásos infiltrációt mutatott.

Az *in vitro* limfocita transzformációs tesztelés során amoxicillin/klavulánsav gyógyszerrel egy esetben sem észleltünk pozitivitást. Egy betegnél cefiximmal fokozott limfocita proliferációt találtunk. Az amoxicillinre gyaníthatóan túlérzékeny és negatív LTT-eredményekkel rendelkező 10 betegünk közül hatot *in vivo* prick-, intradermális és epicutan próbákkal tovább vizsgáltunk. Mind a hat beteg negatív választ mutatott a prick tesztekkel. Az intradermális tesztek négy alanyánál eredményeztek pozitív reakciót, igazolva a penicillin iránti túlérzékenység kialakulását. Ezek a pozitív bőrreakciók MDM és PPL mellett is, és különböző hígításoknál jelentkeztek. A fennmaradó két betegnél a negatív prick és intradermális teszt eredményt követően epicutan bőrpróbát végeztünk, negatív eredménnyel.

Fontos megjegyezni, hogy az *in vivo* vizsgálatokat legalább hat hónappal a tünetek megszűnése után végeztük, ami arra enged következtetni, hogy nem átmeneti toleranciavesztés alakult ki, hanem valódi gyógyszer-túlérzékenységi reakció az antibiotikummal szemben.

## *II. Vizsgálat: hiperurikémia és gyógyszer-túlérzékenység*

### **Limfocita Transzformációs Teszt**

2002 januárjától 2017 januárjáig 335 különböző egészségügyi intézményből allopurinol túlérzékenység gyanújával küldött beteget vizsgáltunk limfocita transzformációs teszttel. A kérések száma 2002 januárja és 2009 júliusa között 89, 2009 júliusa és 2017 januárja között 246 volt, ami a megnövekedett gyógyszerfogyasztást tükrözi Magyarországon. 190 esetben végeztünk komplett gyógyszerallergia anamnézis felvételt, kivizsgálást. A 190 beteg közül 37 esetben (19 nő és 18 férfi) sikerült megfelelően azonosítani az allopurinolt, mint kiváltó ágens. Az átlagéletkor a nőbetegeknél 70 év volt, a férfibetegeknél pedig 67 év. Az allopurinollal végzett limfocita transzformációs teszt 37-ből csak 4 esetben volt pozitív. A 4 pozitív beteg közül kettőnél maculopapulózus exanthema, egy betegnél DRESS és egyénél vasculitis jelentkezett.

### **Gyógyszeres anamnézis**

Az allopurinol kezdő és fenntartó dózisa magas, 300 mg/nap volt, betegeink közül mindössze egy DRESS-es beteg kapott 100 mg-os napi adagot. Az egyidejűleg alkalmazott gyógyszerek elemzése szerint 8 gyógyszercsoportot gyanítottunk az allopurinol által kiváltott túlérzékenységi reakciók kialakulásának releváns kockázati tényezőjeként: angiotenzin-konvertáló enzim-gátlók, benzodiazepinek, béta-blokkolók, diuretikumok, HMG CoA-reduktáz gátlók (3-hidroxi-3- metil-glutaril-koenzim A reduktáz), nem szteroid gyulladásgátló szerek (NSAID-ok), protonpumpa-gátlók és trombocita-aggregáció-gátlók. A benzodiazepinek, diuretikumok, protonpumpa-gátlók, thrombocita aggregáció-gátlók és bétablokkolók alkalmazása szignifikánsan magasabb volt a többihez képest.

### **Társbetegségek**

A vizsgált populációban az allopurinol adásának javallata minden esetben a hiperurikémia pro-inflammatorikus hatásának megelőzése volt, mindössze négy főnek volt köszvény betegsége (az adverz tünet három esetben generalizált makulopapulózus exanthema, egy esetben SJS volt). A betegek átlagos húgysavszintje 398,23  $\mu\text{mol/L}$  volt. A következő társbetegségek jelenthetik pácienseink allopurinollal összefüggő túlérzékenységének további kockázati tényezőit: szívbetegségek (pangásos szívelégtelenség, szívritmuszavarok,

billentyűbetegségek), érrendszeri betegségek (cerebrovasculáris betegség, koszorúér-betegség), magas vérnyomás, cukorbetegség, májbetegség, ill. veseelégtelenség. A magas vérnyomás, az érrendszeri megbetegedések és veseelégtelenség jelenléte szignifikánsan magas volt a vizsgált csoportban.

### **Klinikai jellemzők**

A bőrtünetek általában az allopurinol-terápia első 4 hetében, átlagosan 3,6 hét elteltével jelentkeztek 28 betegnél, 9 esetben nem volt pontos adatunk. Öt beteget, akik közül kettőnél erythrodermát, kettőnél maculopapulózus exanthemát (MPE) és egynél Stevens-Johnson-szindrómát (SJS) diagnosztizáltak, tévedésből ismételten allopurinollal kezeltek. Az ismételt expozíció esetén a kezdeti tünetekhez hasonlóak jelentkeztek 24-120 óra elteltével. A többi beteg tünetmentes maradt a kezelés és az összes többi gyógyszer – az allopurinol kivételével – ismételt beadása után, ami határozottan jelzi, hogy az allopurinol volt az kiváltó ok. A következő klinikai megjelenési formákat észleltük: DRESS 13 esetben, AGEP 1 esetben, SJS 2 esetben, SJS/TEN átmenet 1 esetben, MPE 16 esetben, erythroderma 2 esetben és vasculitis szintén 2 esetben.

### **Szövettan**

Az allopurinol által kiváltott túlérzékenységi reakciókra utaló jeleket 29 bőrbioptizációs minta rutin szövettani vizsgálata, valamint 26 minta direkt immunfluoreszcens vizsgálata segítségével azonosítottuk. A szövettan minden esetben interface dermatitist igazolt, ami karakterisztikus hisztopatológiai jellemzője a késői típusú reakcióknak.

Az allopurinol indukálta adverz reakciók jellemző szövettani mintázatához a hidropikus degeneráció formájában jelentkező bazális keratinociták apoptózisa, a keratinociták egyéni és/vagy összefüggő nekrozisa, és az intra- és/vagy szubepidermális bulla formációval járó teljes szélességű epidermális nekrozis tartozik. A papilláris dermis oedemája, a superficialis intra- és perivascularis lymphohistiocytás beszűrődés - eozinofil és neutrofil sejtekkel kísérvé - szintén észlelhető volt. AGEP esetén szubcornealis és intraepidermális pustula képződés és emelkedett neutrofil szám bizonyult további jellegzetességnek. A direkt immunfluoreszcens vizsgálat során főként C3, vasculitisben IgM depozíció látszott a dermo-epidermális junkció területén, továbbá a superficialis kis dermális erek falában.

## **HLA-B\*58:01 allél**

Nyolc igazoltan allopurinol allergiás páciensünk beleegyezett, hogy részt vegyen HLA-B\*58:01 genetikai vizsgálatunkban. A vizsgált személyek különböző neműek voltak és az allopurinol eltérő tüneteket váltott ki náluk, 5 esetben generalizált maculopapulózus exanthemát (2 nő és 3 férfi), 2 esetben DRESS-t (1 nő és 1 férfi) és egy nőbeteg esetében Stevens-Johnson szindrómát indukált. A HLA-B\*58:01 allél kimutatása csak egy, olyan nőbetegünkénél volt pozitív, akinél korábban DRESS alakult ki. Ezen túlmenően a kontrollcsoport egészséges donorjai között is találtunk egy személyt HLA-B\*58:01 allél pozitivitással.

## **Terápia**

Első lépésként leállítottuk az allopurinol szedését a további lehetséges kofaktorként feltételezett gyógyszerekkel együtt. A kezelési stratégiánk helyi és szisztémás (orális vagy intravénás) kortikoszteroid terápiából (metilprednizolon) állt 0,4 mg/tskg és 1,5 mg/tskg közötti kezdő napi dózissal a tünetek súlyosságától függően. A betegek gyógyulása és a szteroidterápia tünetektől függő csökkentése heteket, átlagosan 3 hetet vett igénybe. A jövőbeni allergiás reakciók megelőzése érdekében a betegek tájékoztatást kaptak arról, hogy szigorúan kerüljék az allopurinolt.

## **5. Diszkusszió**

### *1. Vizsgálat: mononucleosis infectiosa és gyógyszer-túlérzékenység*

Célkitűzésünk volt megvizsgálni, hogy betegeink között antibiotikum ellen valódi túlérzékenység alakult-e ki. Friss irodalmi adatok szerint a florid vírusinfekció során alkalmazott aminopenicillin elleni allergiás reakció jóval gyakoribb, mint azt korábban gondolták. Mivel Renn és munkatársai korábban három mononucleosis infectiosás beteg esetén mutattak ki valódi szenzitizációt amoxicillinre, megvizsgáltuk e jelenséget további evidencia után kutatva. Eredményeink további bizonyítékot szolgáltatnak arra, hogy ezen betegek esetén a fertőzés során valóban gyógyszer szenzitizáció alakul ki.

A klinikai relevanciával rendelkező hiperszenzitív reakció megkérdőjelezhetetlen bizonyításához a kiváltó gyógyszerrel való tesztelés szükséges lehet.

Nem tudunk pontos magyarázatot adni ezen esetek mindegyikében tapasztalt negatív LTT eredményre penicillinnel. Elképzelhető, hogy a módszerünk fejlesztésre szorul, ugyanakkor feltételeznünk kell, hogy ennél a betegcsoportnál az LTT nem a legszenzitívebb vizsgáló módszer. Egyéb adataink azt mutatják, hogy főként azonnali típusú reakciók esetén kapunk pozitív LTT eredményeket a penicillinnel. A két beteget, akiknek negatív *in vitro* és *in vivo* teszteredményük van penicillinnel, tovább lehetne vizsgálni gyógyszerprovokációs teszttel annak érdekében, hogy kétséget kizáróan bizonyítsuk, hogy sem amoxicillin oldallánc szenzitivizáció, sem pedig penicillin szenzitivizáció nem történt.

## *II. Vizsgálat: hiperurikémia és gyógyszer-túlérzékenység*

Néhány vizsgálat a hiperurikémiát a koronária- és szívbetegség, stroke és kardiovaszkuláris halálozás független kockázati tényezőjeként azonosította, mely előrevetíti a húgysavszint preventív csökkentésének fontosságát. Fontos megjegyezni azonban, hogy a széles körben elterjedt húgysavszintézist befolyásoló gyógyszer, az allopurinol viszont gyakran tehető felelőssé adverz gyógyszerreakciókért. A reakciók változatos klinika képet mutatnak, akár súlyos tünetek, SJS, TEN, DRESS vagy AGEP is kialakulhat. Ezek életet veszélyeztető, magas mortalitású és rossz prognózisú kórképek. Az allopurinol prevenció általánossá válásával Magyarországon régióinkban egyre növekvő számú allopurinol hiperszenzitivitási reakciót észleltünk. Az idősebb populáció, betegeink átlagéletkora 63 év volt, nemtől függetlenül különösen fogékonyak mutatkoztak az allopurinol-túlérzékenységre. A meglévő betegségek befolyásolni látszanak az allopurinol-hiperszenzitivitás kialakulását, mely e populációt sebezhetőbbé teszi a súlyos gyógyszerreakciókkal szemben. A kardiovaszkuláris kórképek megelőzése szintén kérdéses e populációban. A magasvérnyomás betegség, az érbetegségek (cerebrovaszkuláris kórképek, koronáriabetegség) és a rossz vesefunkció jelentősen emelkedett volt a vizsgálati csoportban. Betegeink által egyidejűleg szedett gyógyszerek között 8 olyan gyógyszer-csoportot azonosítottunk, melyek hatással lehettek az allopurinol okozta adverz reakciók kialakulására.

A benzodiazepinek, diuretikumok, proton pumpa gátlók, thrombocytá aggregáció gátlók és bétablokkolók használata különösen gyakori volt. Ezek a hatások (egyidejű betegségek és kezelésük) befolyásolhatják a vese kiválasztását, ezáltal pedig az allopurinol eliminációját. Betegeinknél magasabb allopurinol kezdő és fenntartó dózist is megfigyeltünk.

A csökkent vesén keresztüli kiválasztás, a citokróm p450 rendszer, aldehid-oxidáz, és vese traszporterek kompetitor molekulái befolyásolják az allopurinol metabolizmusát és kiválasztását, magas plazma allopurinol és oxipurinol szintet eredményezve. Az adverz reakció kialakulásának kockázatát növeli a gyógyszer, főként annak oxipurinol metabolitjának toxikus hatása. Az oxipurinol specifikus T sejt aktiváció ismert folyamat.

Valószínűleg fiatal, egészséges emberek esetén az allopurinol preventív terápia sokkal kevesebb kockázattal és sokkal több előnnyel jár. Az allopurinol terápiába biztonságossága érdekében az „alacsony dózissal kezdünk és haladjunk lassan” elv, valamint a gyógyszer-túlérzékenységi tünetek korai felismerése egyaránt fontos. Az előre nem megjósolható túlérzékenység megelőzése kihívást jelent. Han kínai, thai, japán és koreai populációban erős HLA-B\*58:01 allél asszociációt észleltek allopurinol-túlérzékenységben, míg európaiak esetén releváns, de gyengébb asszociáció mutatkozott. Nyolc beteg közül 1 esetben észleltünk HLA-B\*58:01 allél pozitivitást, akinek korábban DRESS szindrómája alakult ki, emellett a 8 egészséges donor közül 1 főnél. Az ázsiai populációban a HLA-B\*58:01 allélhoz az SJS és TEN társult elsősorban, míg az európai populációban a DRESS is, ahogyan a mi betegünk esetén is látható volt. Tizenhat beteg alapján nem sokat tudunk mondani a HLA-B\*58:01 allél magyar populációban előforduló gyakoriságáról. Lehetséges, de vélhetően nem gazdaságos a betegek szűrése HLA-B\*58:01 allél irányába az allopurinol kezelés előtt. Adataink alapján úgy látjuk, hogy még a HLA-B\*58:01 allél kimutatása esetén sem tudjuk elkerülni a súlyos reakciók kialakulását, mivel az HLA-B\*58:01 alléllal nem asszociált betegeknél is kialakulhatnak.

Beteganyagunkban az allopurinol-túlérzékenység klinikai tünetei szerteágazóak voltak. A késői típusú (IV) adverz reakciókon túl vasculitist is felfedeztünk. Mindig jelen volt bőrérzékenység a túlérzékenységi reakció esetén, és a klinikai tünetek, továbbá a gyógyszer bizonyított alkalmazása mellett a szövettani vizsgálat is alátámasztotta a diagnózist. A szövettan minden esetben interface dermatitist igazolt, ami karakterisztikus hisztopatológiai jellemzője a késői típusú reakcióknak. Az allopurinol indukálta adverz reakciók jellemző szövettani mintázatához tartozik a hidropikus degeneráció formájában jelentkező bazális keratinociták apoptózisa, a keratinociták egyéni és/vagy összefüggő nekrozisa, és az intra- és/vagy szubepidermális bulla formációval járó teljes szélességű epidermális nekrozis. A papillaris dermis oedemája, a superficialis intra- és perivascularis lymphohistiocytás beszűrődés - eozinofil és neutrofil sejtekkel kísérve - szintén észlelhető volt. AGEP esetén

szubcornealis és intraepidermális pustula képződés és emelkedett neutrofil szám bizonyult további jellegzetességnek. A direkt immunfluoreszcens vizsgálat során főként C3, vasculitisben IgM depozíció látszott a dermo-epidermális junction területén, továbbá a superficialis kis dermális erek falában. Minden betegünkönél készült limfocita transzformációs teszt, melynek szenzitivitása 53%-osnak, míg specificitása 96%-osnak bizonyult allopurinol esetén.

## 6. Következtetés

Adataink szerint az in vitro tesztelés, különösen a limfocita transzformációs teszt nem elég szenzitív módszer a penicillin elleni gyógyszer szenzitizáció meghatározásában a mononukleózis fertőzés során jelentkező bőrtünetek esetén. In vivo bőrpóbák végzése javasolt a szenzitizáció kimutatására. Eredményeink mutatják ennek a fontosságát, hiszen látható, hogy valódi gyógyszerérzékenység, aminopenicillin szenzitizáció kialakulhat mononukleózisban.

Az adverz gyógyszerreakciók a gyógyszerek kiszámíthatatlan, nem kívánt hatásai, melyek gyorsan életet veszélyeztető állapottá alakulhatnak. Az allopurinol-hiperszenzitivitás egyre növekvő száma miatt az idős populációban, ahol már kialakult cardiovascularis betegségek és más társbetegségek is jelen vannak, az allopurinol cardiovascularis preventív szerepe óvatosabb megfontolást igényel. Fontos az „alacsony dózissal kezdjük és haladjunk lassan” filozófia betartása a terápia során, és az adverz reakciók korai tüneteinek felismerése. A HLA-B\*58:01 allél szűrése egy lehetséges opció a reakciók megelőzésében, azonban gazdaságilag feltehetően előnytelen döntés, mivel ez nem képes megakadályozni a súlyos reakciók kialakulását.



## 7. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném megköszönni témavezetőmnek és mentoromnak, Bata-Csörgő Zsuzsanna Professzorasszonynak felbecsülhetetlen tudományos támogatását és iránymutatását a kutatásaim és szakmai fejlődésem során. Abban a szerencsés helyzetben voltam, hogy nemcsak a bőrgyógyászat és a klinikai munka alapjait tanulhattam meg tőle, de megmutatta a kemény, kitartó, pontos munka értékét is. Hálával tartozok neki a tudományos publikációim és szakdolgozatom megírása során nyújtott tanácsaiért, iránymutatásaiért.

Szintén köszönettel tartozok Kemény Lajos Professor Úrnak, aki lehetőséget biztosított számomra a SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán klinikai és tudományos tevékenységem folytatására. Számos tanácsával, irányításával és a klinikánk nyújtotta biztos háttérrel merőben hozzájárult kutatásaim sikereihez és klinikai fejlődésemhez is.

Kinyó Ágnes doktornőnek rendkívül hálás vagyok a munkám során nyújtotta folyamatos támogató tevékenységéért. Minden társszerzőmet is köszönet illeti publikációim elkészítéséért.

Az SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika összes dolgozóját, különösképpen Bajkán Tanácsné Andreát, Lászlóné Gordos Editet, Kohajda Mónikát és Tariné Palotás Zsuzsannát köszöntöm az általuk nyújtotta sok segítségért.

Hálás vagyok a szüleimnek, nagyszüleimnek, akik életem és tanulmányaim során mindvégig támogattak és bíztattak, valamint szeretett lányaimnak és férjemnek, akik nélkül nem tudtam volna elérni célomat.