

Reakcja anafilaktyczna wywołana prowokacją spojówkową z rekombinowanym alergenem brzozy rBet v 1 a Mut1-6 – opis przypadku

KAROLINA WOSZTAK, HANNA ZIELIŃSKA-BLIŹNIEWSKA, KRZYSZTOF BUCZYŁKO

Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Katedra Klinicznych Podstaw Rehabilitacji, kierownik Katedry i Zakładu: *prof. dr hab. med. K. Buczyłko*

Reakcja anafilaktyczna wywołana prowokacją spojówkową z rekombinowanym alergenem brzozy rBet v 1a Mut1-6 – opis przypadku

Wosztak K., Zielińska-Bliźniewska H., Buczyłko K.

Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Katedra Klinicznych Podstaw Rehabilitacji

Prowokacje spojówkowe z alergenami rekombinowanymi to badania nowe w alergologii, ale oceniane jako bezpieczne. Celem pracy było opisanie przypadku reakcji anafilaktycznej wywołanej alergenem rekombinowanym brzozy o teoretycznie obniżonej alergogenności.

Wyniki. Chora uczulona na pyłek brzozy, u której przeprowadzono prowokację spojówkową z rBet v 1a Mut1-6 wykazała silny odczyn miejscowy oraz reakcję anafilaktyczną w stopniu I/II po aplikacji alergenu.

Wnioski. Próby prowokacyjne z alergenami zawsze niosą ryzyko anafilaksji, dlatego należy przeprowadzać je rozważnie oraz z zabezpieczeniem choremu resuscytacji.

Słowa kluczowe: reakcja anafilaktyczna, prowokacja spojówkowa, alergen rekombinowany, rBet v 1a Mut1-6

Pol. Merk. Lek., 2008, XXV, 148, 361

Anaphylactic reaction caused by conjunctival provocation with birch recombinant allergen rBet v 1a Mut1-6 – case report

Wosztak K., Zielińska-Bliźniewska H., Buczyłko K.

Medical University of Lodz, Poland, Department of Allergology and Respiratory Rehabilitation

Conjunctival provocations with recombinant allergens are new kind of examinations in allergology but they are estimated as safe. The aim of the work was to present a case of anaphylactic reaction caused by birch recombinant allergen with theoretically decreased allergenicity.

Results. A patient allergic to birch pollen revealed strong local and anaphylactic reaction (I/II stage) after conjunctival provocation with recombinant allergen rBet v 1a Mut1-6.

Conclusions. Provocation tests with allergens are at risk of anaphylaxis and that is why they should be conducted with caution and with resuscitation procedures for a patient safety.

Key words: anaphylactic reaction, conjunctival provocation, recombinant allergen, rBet v 1a Mut1-6

Pol. Merk. Lek., 2008, XXV, 148, 361

Wstrząs anafilaktyczny to pojęcie wprowadzone przez Portiera i Richeta w 1902 r. [6]. Oznacza stan zagrożenia życia związany z nadwrażliwością IgE-zależną, w której mogą występować objawy ze strony

- skóry: świąd, pokrzywka, zaczerwienienie;
- układu oddechowego: obrzęk, skurcz;
- sercowo-naczyniowego: hipotonia, tachykardia, arytmia,
- przewodu pokarmowego: nudności, wymioty [5].

Stan ten pojawia się nagle, rozwija gwałtownie i zwykle osiąga szczyt w ciągu 5-30 minut od pierwszych objawów [15]. Klasyfikacja ciężkości objawów opiera się na ogólnie przyjętych skalach według Mullera oraz Ringa i Messmera [7]. Anafilaksja jest najczęściej spowodowana przez leki (28%), jady owadów (17,5%) bądź pokarmy (17%) [6].

Stany chorobowe, które powinno się uwzględnić w rozpoznaniu różnicowym to omdlenie wazowagalne, ostry lęk (napad paniki, zespół hiperwentylacji), dysfunkcja mięśnia sercowego, zatorowość płucna, mastocytoza układowa, aspiacja ciała obcego, hipoglikemia, padaczka [14].

W piśmiennictwie rzadko napotyka się doniesienia na temat wstrząsu anafilaktycznego spowodowanego próbami prowokacyjnymi, a jeśli występują to dotyczą zwykle prowokacji lekami [16] lub produktami spożywczymi [11, 23]. Występują ponadto nieliczne prace opisujące reakcje wstrząsowe po wykonaniu skórnym testów punktowych, np.: z aeroalergenami [13] lub alergenami pokarmowymi [21]. Spora-

dycznie napotyka się publikacje dotyczące zagrożenia anafilaksją w wyniku prowokacji spojówkowej [18]. Co więcej, spojówkowe próby prowokacyjne uznane są za bezpieczne – pod warunkiem właściwej kwalifikacji chorych (poza sezonem pylenia, bezobjawowych) [17] – a także użyteczne narzędzie do określania miejscowego uczulenia oraz do indukowania doświadczalnej reakcji alergicznej w oku [3, 9].

Alergeny rekombinowane to substancje wysoko oczyszczone, o stałej jakości, powtarzalne, które mogą być produkowane w dużych ilościach [8]. Diagnostyka z użyciem tych nowoczesnych narzędzi umożliwia dokładne określenie cząsteczki alergenu, na którą badany jest uczulony [12] z pominięciem wielu składników (białek i wodorowęglanów), teoretycznie niealergizujących, zawartych w powszechnie stosowanych wyciągach alergenowych [22].

Alergeny rekombinowane uznawane są za bardzo bezpieczne do diagnostyki alergologicznej z powodu chemicznej czystości cząsteczki i braku przypadkowych zanieczyszczeń ze źródeł naturalnych, które mogłyby wywołać odpowiedź anafilaktyczną. Niektóre z alergenów rekombinowanych po modyfikacjach genetycznych cechują się zmniejszoną alergogennością przy zachowanej immunogenności, co sprawia, że uważa się ryzyko reakcji anafilaktycznej za znacznie zmniejszone, a zwiększone staje się prawdopodobieństwo wykorzystania tychże alergenów rekombinowanych do immunoterapii [19].

OPIS PRZYPADKU

Chora D.C. lat 47 leczona była od 10 lat z powodu alergii; skarżyła się na katar występujący wiosną i latem, uczucie duszności po zjedzeniu jabłek oraz orzechów. Wykonane wcześniej punktowe testy skórne (PTS) wykazały wybitne uczulenie na wyciąg pyłku brzozy, leszczyny, olchy i pyłku traw, a także dodatni wynik (4 klasa) oznaczania stężenia sIgE dla pyłku brzozy. Chora została zakwalifikowana do badań nad zastosowaniem alergenów rekombinowanych brzozy w PTS i prowokacjach spojówkowych w grupie chorych uczulonych na pyłek brzozy. Zgodę na pracę wyraziła Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W dniu badania (przeprowadzanego poza sezonem pylenia) chora nie zgłaszała żadnych dolegliwości i nie przyjmowała leków. Fizykalnie stwierdzono niewielki obrzęk powiek oraz spojówki powiekowej obu oczu oraz nieznaczny obrzęk małżowin nosowych nieupośledzający drożności nosa.

U chorej wykonano PTS (według zaleceń PTA) z alergenami rekombinowanymi firmy Biomay (Austria) używając roztworów: rBet v 1a – analogu izoformy a głównego alergenu pyłku brzozy, rBet v 1a Mut1-6-proteiny o obniżonej alergogenności otrzymanej poprzez mutację z rBet v 1a oraz rBet v 2 – rekombinowanej profiliny. Przeprowadzono także prowokacje spojówkowe (według van Hage-Hamsen) [24] z rBet v 1a oraz rBet v 1a Mut1-6 w stężeniach – 0,01; 0,1; 1,0 i 10,0 µg/ml.

W przeprowadzonych PTS otrzymano dodatnie wyniki dla alergenów rBet v 1a i rBet v 1a Mut 1-6, a ujemne dla rBet v 2. Prowokacje spojówkowe ze stężeniami 0,01 oraz 0,1 µg/ml zarówno alergenu rBet v1a, jak i rBet v1a Mut1-6 nie spowodowały jakichkolwiek reakcji. Roztwory obydwu testowanych alergenów w stężeniu 1,0 µg/ml spowodowały niewielki świąd, natomiast nie stwierdzono innych obiektywnych objawów podrażnienia. Po podaniu ostatniego stężenia 10,0 µg/ml rBet v1a Mut1-6 po około 1 minucie u chorej wystąpiło silne przekrwienie spojówek, łzawienie, bardzo silny obrzęk powiek oraz spojówki powiekowej i nagałkowej oka, do którego podano alergen.

Chorej podano krople Emadine, 1 tabletkę cetyryzyny (Zyrtec) oraz zimny kompres na powiekę; świąd i łzawienie ustąpiły. Jednak, oprócz odczynu miejscowego rekombinowany alergen podany w prowokacji spojówkowej wywołał reakcję anafilaktyczną w stadium I/II. Pojawiło się uczucie drapania i ucisku w gardle, a po chwili duszność, kołatanie serca oraz nasilone drżenie całego ciała. Wystąpiła także tachykardia (tętno około 90-100 uderzeń/min), ciśnienie tętnicze 180/90 mm Hg – nie rozwinęła się hipotonia. Chorej podano dożylnie Dexaven i wziewnie Salbutamol uzyskując poprawę. Następnie chora była konsultowana internistycznie i kardiologicznie (wykonano EKG – zapis prawidłowy) oraz laryngologicznie – nie było cech obrzęku w gardle i krtani. Nie stwierdzono wskazań do hospitalizacji. Kontrolna ambulatoryjna nie ujawniła objawów opóźnionych ani późnego odczynu alergicznego zarówno miejscowego, jak i ogólnego w ciągu 48 godzin po incydencie.

OMÓWIENIE

Według wiedzy autorów nie opisano dotychczas ani jednego przypadku reakcji uogólnionej po podaniu alergenu rekombinowanego brzozy rBet v 1a Mut1-6. W piśmiennictwie brak jest doniesień o jakichkolwiek reakcjach wstrząsowych, toksycznych czy też infekcyjnych po próbach z alergenami rekombinowanymi.

Dane w dostępnym piśmiennictwie podają, że do tej pory przeprowadzono prowokacje spojówkowe z dwiema rekombinowanymi izoformami głównego alergenu brzozy: rBet v 1a oraz rBet v 1d. Częsteczki te okazały się całkowicie bezpieczne w przeprowadzonych doświadczeniach [24].

Nieliczne są również informacje o reakcjach anafilaktycznych po próbach spojówkowych z alergenami natywnymi, np.: dwie uogólnione reakcje wśród przeprowadzonych 950 pro-

wokacjach z aeroalergenami [2]. Większość publikacji ogranicza się do stwierdzeń, że próby spojówkowe są bardzo użyteczne i stosunkowo bezpieczne w diagnozowaniu chorób alergicznych [1, 9]. Brak jest natomiast danych, które dokładniej opisywałyby to zagadnienie.

W przedstawionym przypadku do badań zastosowano rekombinowane alergeny brzozy: rBet v 1a, rBet v 2 i rBet v 1a Mut1-6. Powstają one w wyniku heterologicznej ekspresji przy użyciu *Escherichia coli*, następnie są oczyszczane i liofilizowane. Izofirma rBet v 1a Mut1-6, która wywołała opisywaną reakcję utrzymywana jest z alergenu rBet v 1a przez mutację w pozycjach 1-6, która ma w założeniu zmniejszać alergogenność tej cząsteczki. Niestety, w prezentowanej pracy zastosowana do prowokacji spojówkowej izofirma rBet v 1a Mut1-6 spowodowała silny odczyn miejscowy i uogólnioną reakcję anafilaktyczną.

Analizując zaistniałą sytuację należy nadmienić, że jakkolwiek procedurę badania prowadzono zgodnie z zalecanymi schematami, mogła nastąpić kumulacja dawek PTS i prowokacji spojówkowej (w każdym z zastosowanych testów oddzielnie, a także łącznie). Oznaczałoby to, że dla poprawy bezpieczeństwa takich prób należałoby w przyszłości wykonywać testy skórne innego dnia niż prowokacje spojówkowe.

Być może należy także rozważyć inne odstępy czasowe pomiędzy kolejnymi aplikacjami alergenu do worka spojówkowego. W dostępnych danych piśmiennictwa panuje w tym względzie znaczny rozróż między postulowanymi technikami, zarówno co do czasu podawania alergenu (co 10 [3] lub 20 min [10]), jak również dawki jednorazowej alergenów np.: od 100 do 320 000 BU/ml [10] czy też od 19 AU/25 ml do stężenia dającego objawy dodatnie [3] lub od 1,2 do 100,0 RI [4]. Optymalizacja dawek alergenów rekombinowanych nie jest obecnie, jak się wydaje, zakończona.

Należy rozważyć także fakt, że przyczyną nadmiernej reakcji mogło być wykonanie badania w sezonie pylenia leszczyny, która ma wspólne determinanty antygenowe z pyłkiem brzozy. Tak więc do oka przed prowokacją mogła dostać się nieustalona ilość alergenu, który zadziałał jako krzyżowy i stanowił jakby gruntowanie (priming) przed testem.

Według wiedzy autorów jest to pierwszy na świecie opisany przypadek reakcji uogólnionej po prowokacji z rekombinowanym alergenem brzozy. Dostępne dane piśmiennictwa nie zawierają informacji o jakichkolwiek reakcjach anafilaktycznych, toksycznych czy też infekcyjnych po próbach z alergenami rekombinowanymi brzozy, ani też żadnymi innymi [20]. Może to oznaczać, że nowoczesne teoretycznie hipoalergiczne izoformy są nimi dopóty, dopóki nie natrafimy na osobę, której przeciwciała przypadkowo reagują na takie właśnie białko jak na alergen główny. Opisana sytuacja inspirowała do podjęcia w przyszłości badań nad indywidualnym profilem alergii u chorych kwalifikowanych do immunoterapii.

WNIOSKI

Zaistniała sytuacja powstała w odpowiedzi na teoretycznie najbezpieczniejszy substrat antygenowy przygotowany do PTS i prób spojówkowych na szczęście nie rozwinęła się w pełno objawowy wstrząs z groźną reakcją uogólnioną czy też niewydolnością narządową. Niemniej jednak uzmysłowiła ona fakt, że należy z rezerwą korzystać z teoretycznie bezpiecznych narzędzi badawczych, które udostępnia nam nauka.

W diagnostyce alergologicznej pojawiają się nowe metody oparte o rekombinowane alergeny, które mogą mieć potencjalnie zmniejszoną alergogenność. Należy jednak zawsze pamiętać, aby korzystać z nich ostrożnie, ponieważ testowanie przyczyn alergii zawsze niesie ryzyko anafilaksji. Dlatego naczelną zasadą w tego typu badaniach alergologicznych powinna być rozważa i zagwarantowanie badanym maksymalnego bezpieczeństwa przez rozsądne dawkowanie aler-

genów oraz, gdy zaistnieje taka konieczność, zapewnienie resuscytacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Abelson M.B., Loeffler O.: *Conjunctival allergen challenge: models in the investigation of ocular allergy*. Curr. Allergy Asthma Rep., 2003, 3, 4, 363-368.
2. Anderson D.F., McGill J.I., Roche W.R.: *Improving the safety of conjunctival provocation tests*. J. Allergy Clin. Immunol., 1996, 1000-1013.
3. Bartkowiak-Emeryk M., Toczolowski J.: *Metody diagnostyczne w alergicznych chorobach oczu*. Okulistyka, 2001, 5, 8-13.
4. Bertel F., Mortemousque B., Sicard H. i wsp.: *Test de provocation conjunctival au Dermatophagoides pteronyssinus dans le diagnostic des conjonctivites allergiques aux acariens domestiques*. J. Fr. Ophthalmol., 2001, 24, 6, 581-589.
5. Bohle K., Davis R.L., DeStefano F. i wsp.: *Epidemiology of anaphylaxis among children and adolescents enrolled in a health maintenance organization*. J. Allergy Clin. Immunol., 2004, , 536-542.
6. Brown A.F.T., McKinnon D., Chu K.: *Emergency department anaphylaxis: A review of 142 patients in a single year*. J. Allergy Clin. Immunol., 2001, Nov, 861-866.
7. Cichocka-Jarosz E.: *Postępy w anafilaksji*. Alergia, 2008, 1, 14-16.
8. Cromwell O., Suck R., Kahlert H. i wsp.: *Transition recombinant allergen from bench to clinical application*. Methods, 2004, 32, 3, 300-312.
9. Friedlaender M.H.: *Conjunctival provocation testing: overview of recent clinical trials in ocular allergy*. Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., 2002, 2, 5, 413-417.
10. Groblewska A., Najdyhor B., Czajkowski J.: *Metody diagnostyczne w alergicznych schorzeniach oczu*. Okulistyka, 2000, 4, 23-25.
11. Inomata N., Osuna H., Yanagimachi M. i wsp.: *Late-onset anaphylaxis to fermented soybeans: the first confirmation of food-induced, late-onset anaphylaxis by provocation test*. Ann. Allergy Asthma Immunol., 2005, 94, 3, 402-406.
12. Kucharczyk A., Faber M., Jahnz-Różyk K.: *Alergeny rekombinowane – spojrzenie na rozpoznawanie i leczenie chorób alergicznych*. Alergologia Współczesna 2005, 1, 15, 25-40.
13. Liccardi G., Salzillo A., Spadaro G. i wsp.: *Anaphylaxis caused by skin prick testing with aeroallergens: Case report and evaluation of the risk in Italian allergy services*. J. Allergy Clin. Immunol., 2003, 1410-1412.
14. Liebermann P., Kemp S.F., Oppenheimer I. i wsp.: *The diagnosis and management of anaphylaxis; an updated practice parameter*. J. Allergy Clin. Immunol., 2005, 115, 3 suppl. 2, 483-523.
15. Lockey R.F.: *Anafilaksja*. Przegląd Alergologiczny 2005, 3, 9-12.
16. Messaad D., Sahla H., Benahmed S. i wsp.: *Drug provocation tests in patients with a history suggesting an immediate drug hypersensitivity reaction*. Ann. Inter. Med., 2004, 140, 12, 1001-1006.
17. Möller C., Björsten B., Nilsson G. i wsp.: *The precision of conjunctival provocation test*. Allergy, 1984, 39, 37-41.
18. Mullins R.J., Richards C., Walker T.: *Allergic reactions to oral, surgical and topical bovine collagen. Anaphylactic risk for surgeons*. Aust. N. Z. J. Ophthalmol., 1996, 24, 3, 257-260.
19. Pauli G., Purohit A., Oster J.P. i wsp.: *Comparison of genetically engineered hypoallergenic rBet v 1 derivatives with rBet v 1 wild-type by skin prick and intradermal testing: results obtained in a French population*. Clin. Exp. Allergy, 2003, 30, 1076-1084.
20. Schmid-Grendelmeier P., Cramer R.: *Recombinant allergens for skin testing*. Int Arch. Allergy Immunol., 2001, 125, 96-111.
21. Senna G., Bonadonna P., Crivellaro M. i wsp.: *Anaphylaxis due to Brazil nut skin testing in a walnut-allergic subject*. J. Investig. Allergol. Clin. Immunol., 2005, 15, 3, 225-227.
22. Tresch S., Holzmann D., Baumann S. i wsp.: *In vitro and in vivo allergenicity of recombinant Bet v 1 compared to the reactivity of natural birch pollen extract*. Clin. Exp. Allergy, 2003, 33, 1153-1158.
23. Wen D.C., Shyr S.D., Ho C.M. i wsp.: *Systemic anaphylaxis after the ingestion of pancake contaminated with the storage mite Blomia freemani*. Ann. Allergy Asthma Immunol., 2005, 95, 6, 612-614.
24. Van Hage-Hamsten M., Pauli G.: *Provocation testing with recombinant allergens*. Methods, 2004, 32, 281-291.

Praca finansowana ze środków na naukę w latach 2005-2007 jako projekt badawczy – grant Ministerstwa Nauki i Informatyzacji (nr 2PO5D11029) oraz grant Prezydenta Miasta Łodzi (G-34/06).

Otrzymano: 17 czerwca 2008 r.

Adres: Karolina Wosztak, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Katedra Klinicznych Podstaw Rehabilitacji, pl. Hallera 1, 90-647 Łódź, tel./fax 042-639 35 28