

文章编号: 1672-3384 (2004) -01-0051-04

药物抗体致病危害临床病例分析

【作者】 朱玉珍¹ 赵明辉¹ 汪波¹ 梁雁¹ 邓培媛² 马明信¹

1 北京大学第一医院 (北京 100034)

2 北京市药品不良反应监测中心 (北京 100035)

【摘要】 目的: 通过血液免疫学药物抗体检测寻找药物中毒病因, 结合临床表现进行病理分析, 为病人提供可靠的实验诊断依据, 指导临床治疗。方法: 免疫血液学体外药物模拟, 经典的抗球蛋白试验法。标本取自疑为利福平 (RFP)、葛根素 (PRR) 及四环素 (Tetracycline) 所致急性溶血、急性肾衰和脏器功能损伤病人, 共计 57 份 (其中 RBC 标本 32 份); 对照标本 10 例。直接抗球蛋白试验 (DAT) 检测病人红细胞 (Pc) 上的免疫复合物; 间接抗球蛋白药物模拟试验 (IAT) 检测病人血清 (Ps)、药物、补体 (或灭活补体) 孵育过的试剂红细胞 (Dc) 在抗人球蛋白试剂 (AGS) 中的反应。同时设单纯药物损伤细胞试验及正常血清、细胞模拟对照。结果: 被检病人红细胞 DAT 阳性率 75% (24/32), 血清抗体阳性率 68% (39/57 例) 通过补体对比试验观察, 灭活补体的 RFP 组与 3 种特异性 AGS 凝集全部消失; PRR 组仅与抗-C₃ 凝集消失。终浓度 1g/L 利福平孵育的 Dc 在 IAT 中与广谱 AGS 出现极轻微凝集; 葛根素组无变化。10 例对照均为阴性。结论: 药物免疫性抗体是造成急性溶血、肾功能衰竭以及组织器官损伤的真正病因, 及时停药是治疗的关键步骤。

【关键词】 利福平 葛根素 四环素 药物免疫性抗体 抗球蛋白试验

【中图分类号】 R 967; R556.5; R692.5

【文献标识码】 A

Clinical Case Analysis for Drug Antibody's Pathogenic Danger

【Writers】 Zhu yu-zhen Zhao Ming-hui Wang Bo Liang yan Deng Pei-yuan Ma Ming-xin

1 Peking University the first hospital (Beijing 100034)

2 Beijing Center for ADRs monitoring (Beijing 100035)

【Abstract】 Purpose: Through hematoimmunological drug antibody detection to find out the cause of drug toxication, combining the clinical manifestations to make pathological analysis, to provide reliable experimental diagnostic gist and to instruct clinical therapy. Method: Hematoimmunological drug imitation in vitro, a classical antiglobulin test. took 57 samples (32 RBC samples) from the patients with chincinal suspected drug-induced acute hemolysis, acute renal failure and organic damage. The drug included rifampicin, puerarin and tetracycline. at the same time, 10 contrast samples were taken. Direct anti-globulin test (DAT) was used to todetect the immunocomplex on RBC (Pc), and indirect anti-globulin test (IAT) was used to detect the reaction of antiglobulin reagent to the RBC reagent (Dc) incubated in the patients'serum, drug and complement (or inactivate complement). At the same time, set simple drug-induced cellular injury test and imitation contrast test of normal serum and cells. Result: The positive rate RBC of patients in DAT was 75 percent (24/32), and that of serum antibody is 68 percent (39/57). However, for serum incubated with rifampicin in IAT with three specific AGS, the aggtutinats of all were diminsled when addifion inactivated complement, while in puerarin group in IAT, the results were unchanged, except the agglutinations disappears with anti-c₃ reagent. Dc which was incubated in RFP at a final ancentration of 1g/L could induced a weak agglutinates with anti-broad AGS in IAT, but there was no change in PRR. All the 10 contrast samples were negative. Conclusion: Drug immunological antibody is the genuine cause of acute he-

molysis, renal failure and tissues organs injury , and drug withdrawl in time was the key process.

[Key words] rifampicin puerarin tetracycline drug immunological antibody antiglobulin test.

药物致溶血反应早已被证实^[1]。利福平(RFP)和葛根素(PRR)造成急性肾或其他器官功能衰竭也多有报道^[2-5]。笔者自1999年3月以来,从血液免疫学角度对疑为药物不良反应致器官功能损害标本进行实验研究,经大量标本验证,其体内含有的特异性药物抗体是致病的真正原因。对此目前国内未见相关文献报道。本文将结合化验结果及病人临床表现,对致病机制进行探讨,并提出治疗建议。

1 资料、试剂与方法

1.1 病历资料

1.1.1 病例情况 1994年8月至2003年4月间收集疑为药物中毒标本共57例,其中利福平(Rifampicin, RFP)49例;葛根素(Puerarin, PRR)7例(5例现症病人,2例回顾诊断追踪病例),四环素(Tetracycline, TCC)1例。病例地区分布见表1。其中男性31例,女性26例,年龄分布在17~80岁,平均(45.69±15.44)岁。被检者均有多次(或间断多日)使用利福平(肠炎灵)、葛根素或四环素药物治疗史。56例临床怀疑为上述药物引起的急性肾功能衰竭和(或)急性药物性溶血,1例为用药15d后做抗体筛查标本。

表1 57例病例标本来源

	北京	内蒙古	辽宁	天津	山东	河北	广东	合计
利福平组	25	9	2	3	1	3	6	49
葛根素组	7	0	0	0	0	0	0	7
四环素组	1	0	0	0	0	0	0	1
合计	33	9	2	3	1	3	6	57

1.1.2 临床表现 确诊的39例病人均有发热,幅度37.8~41.2℃。利福平组多以恶心、呕吐、腹部胀痛、绞痛、腹泻、水泻或黏液便为主要症状;葛根素组则以项背僵硬、腰背疼痛向肾区放射,伴有

过敏反应为主要表现,如手足、皮肤、咽部痒感,干咳,皮肤片状充血,喘、憋、呼吸困难,全身关节痛;严重者出现一过性意识丧失,甚至昏迷,播散性血管内凝血(DIC)等;个别病例以眼底出血、动脉血栓、静脉出血、视力严重障碍为突出表现;被检者绝大部分伴有急性溶血,血象常规检查:红细胞降低,白细胞增高,血小板降低,一过性血红蛋白血症,血红蛋白尿,黄疸等。实验检测可见肝肾及其他组织器官严重受损的病理改变^[6-8]。10例对照:选择有使用葛根素治疗史1~2个疗程,当时正在我院应用葛根素治疗3~7d,但无临床症状者,其中男性9例,女性1例,年龄分布在63~90岁,平均(73.1±9.08)岁。

1.1.3 病人血样 38例RFP疑似标本,5例PRR及1例TCC标本取于发病急性期;4例RFP、2例PRR取于发病2个月后。1例为应用RFP15d后停药,做抗体筛查标本。6例为1994~1998年期间-20℃保存1~5年的疑为利福平性肾功能衰竭血清样本。57例中,2例确诊含PRR药物抗体的复查标本分别于发病后42d及痊愈后8个月进行复检。10例葛根素对照标本均为用药治疗中抽取。RBC标本为EDTA-K₂抗凝,共32份;不抗凝分离血清。

1.2 试剂

1.2.1 试剂红细胞(Dc) DAT阴性的正常O型人红细胞。

1.2.2 补体 AB型人血清(Ds),24h内分离,经鉴定无额外抗体,4℃或-20℃保存备用。

1.2.3 抗球蛋白血清(AGS)市售3种特异性试剂,按要求使用。

1.2.4 利福平溶液,葛根素溶液,四环素试剂,均为病人提供,以0.9%氯化钠注射液配应用液,供试验用。

1.3 试验方法

1.3.1 直接抗球蛋白试验 (DAT) 查被检红细胞上的免疫复合物,以3种AGS测定。

1.3.2 观察药物对正常细胞的损伤 将试剂红细胞分别加入高于体内治疗浓度7~28倍的药物溶液,在37℃水浴孵育,1h后洗净,用3种AGS检测细胞有否凝集,并在镜下观测形态变化。然后将药物孵育过的该Dc再分别与病人血清(Ps)、Ds、补体孵育,行抗球蛋白试验,检测凝集强度变化情况。

1.3.3 病人血清中特异性抗药物抗体 用间接抗球蛋白药物模拟试验(IAT)法检测。

1.3.4 观察补体作用 灭活Ps和Ds中的补体,其他试验条件同上,与不灭活组对比凝集强度变化。

1.3.5 对照 设Ps加Pc加药物与不加药物作自身对照;Ps加Dc不加药物组作空白对照;Ds加药物模拟作阴性对照。

2 结果

2.1 利福平组标本共49例,其中RBC标本24例。DAT阳性率75%(18/24)。Ps抗体阳性率65.3%(32/49)。在药物模拟试验阳性标本中同一份血清在不同浓度药物中凝集强度有差异^[8];同一浓度药物

孵育后的Dc与3种AGS反应时的凝集强度有差异,但均与抗-C₃最强。18例Ps药物抗体阴性。其中3例Ps自身对照和空白对照与抗-C₃均出现弱凝集;1例自身对照阴性,但Ps与Dc无论是否加入药物的IAT均凝集,强度均3+,经进一步鉴定含同种异体抗-E血型抗体;1例检出流行性出血热IgM、IgG抗体;一例用药15d无症状做抗体筛查者阴性。

2.2 葛根素组标本7例,发病期送检5例,Pc DAT及Ps药物模拟IAT均阳性,Ps与Dc在37℃孵育1h后离心,5例全部凝集(37℃盐水介质)。在洗涤过程中3例溶血;2例用药2个月后随访的标本RBC DAT阴性,Ps药物模拟IAT仅与抗-C₃凝集。已确诊的2例葛根素抗体阳性复检标本,RBC DAT均阴性,其中1例距发病42d的病人血清抗葛根素抗体阳性,另1例治愈8个月后的血液标本无阳性发现。10例应用葛根素治疗的对照标本DAT、IAT均为阴性。1例疑似四环素致溶血、肾功能衰竭发病15d标本,Pc DAT与Ps药物模拟IAT均阳性。详见表2。各例试验中所设Ds药物模拟对照均为阴性。

表2 57例标本药物抗体检测结果

组别	DAT n=32					IAT n=57				
	总例数 n=57	阳性/被检	抗-广谱	抗-IgG	抗-C ₃	阳性/被检	37℃盐水	抗-广谱	抗-IgG	抗-C ₃
利福平	12	4/6	2/4	2/4	4/4	11/12	4/11	11/11	9/11	11/11
组1		(0.67)	(0.50)	(0.50)	(1.00)	(0.92)	(0.36)	(1.00)	(0.82)	(1.00)
利福平	37	14/18	6/14	8/14	14/14	20/37	3/20	16/20	16/20	20/20
组2		(0.78)	(0.43)	(0.57)	(1.00)	(0.54)	(0.15)	(0.80)	(0.80)	(1.00)
葛根素组	7	5/7	5/7	5/7	5/7	7/7	5/7	5/7	5/7	7/7
		(0.70)	(0.70)	(0.70)	(0.70)	(1.00)	(0.70)	(0.70)	(0.70)	(1.00)
四环素组	1	1/1	0	0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		(1.00)	(0)	(0)	(1.00)	(1.00)	(1.00)	(1.00)	(1.00)	(1.00)
总计	57	24/32	13/24	15/24	24/24	39/57	13/39	33/39	31/39	39/39
		(0.75)	(0.54)	(0.63)	(1.00)	(0.68)	(0.33)	(0.85)	(0.80)	(1.00)

2.3 高浓度RFP对正常红细胞可能有损伤

Dc单独与2g/L、1g/L、0.5g/L浓度RFP溶液孵育,IAT仅在2g/L(终浓度1g/L)时与抗广谱

AGS出现镜下微弱凝集,余阴性。将此药物孵育过的Dc再与Ps孵育行IAT,凝集强度与试验族相同;与Ds孵育后未增加凝集强度。高浓度四环素损伤细

胞试验未进行。

2.4 补体作用

利福平组灭活 Ps、Ds 补体,以及不加补体的 Ps 在药物模拟 IAT 中凝集全部消失。葛根素组在灭活补体后药物模拟 IAT 中仅与抗 -C₃ 凝集消失。四环素组未行补体对比试验。

3 讨论

3.1 试验结果可靠,可指导临床诊断及治疗

表 2 结果显示送检标本阳性率为 68%。结合送检病人临床病历资料分析,抗体检测阴性者多有可解释的原因:在 10 例提供临床诊断病历中,红斑狼疮 1 例,肾小球基底膜病变 2 例,IgA 型肾病 3 例,超剂量药物中毒 1 例,结核性肾病 1 例,1 例作为用药后抗体筛查,含血型抗 -E 抗体 1 例。另 3 例试验中病人血清自身空白对照与抗 -C₃ 凝集,加入药物对照组凝集强度不增强,可以认为体内存在可活化补体的因素,但似与药物抗体关系不大。7 例葛根素、1 例四环素标本均为北京送检,抗体检出率 100%,与临床诊断相符。10 例应用葛根素治疗但无临床症状的对照标本抗体检测均阴性。上述结果分析可以认为,该检测方法能客观地反映体内病理变化,对指导临床诊断和治疗有重要意义。

3.2 药物“新抗原”抗体反应

笔者在利福平抗体检测试验中采用两步法和一步法进行药物模拟试验,结果两法凝集强度一致,表明药物是与红细胞(无论病人红细胞或试剂红细胞)结合形成“新抗原”,再与血清中的抗体反应,而非药物直接与 Ps 中的抗体反应;加入补体出现凝集,灭活补体凝集消失,表明补体参与该抗原抗体反应,符合三重复合物机理^[1]。葛根素组试验情况有别于利福平组,4 例灭活补体后药物模拟试验 37℃ 盐水介质中仍出现 4+ 凝集,但在 IAT 中与 3 种特异性 AGS 介质反应时与抗 -C₃ 不出现凝集,表明该反应不需补体参与,但却可以活化补体。10 例对照标本的阴性结果印证了药物性病理反应非药物本身原因所致。

3.3 病理损害为全身性

从确诊病人的临床表现分析,尽管病人大部分以溶血和肾功能衰竭(或多脏器功能衰竭)为主要表现,收治于急诊、血液或肾内科,但临床观察却表现为全身性病变,包括血象变化,各种酶类改变,胃肠、肝、肾、关节,甚至神经系统变化等。笔者在这里特别强调补体在病程中的作用,由于药物性抗体与体内各种组织的“新抗原”均有反应,且活化补体能力很强,因而必然造成全身各组织器官的严重损伤,临床必须给予高度重视^[6-8]。

3.4 治疗建议

一旦确诊,应立即停用该类药物,给予激素治疗。对有急性溶血者应及时输用白蛋白(或血浆),以中和游离血红蛋白的毒害作用。同时静脉给予碱性药物,以保护肾脏功能。必要时洗涤红细胞,解决贫血造成的组织缺氧。只要处理及时,预后相对乐观。

【参考文献】

- [1] Lee RG, Foerster J, Lukens J, et al. Wintrobe's clinical hematology 10th ed. Baltimore; Williams & Wilkins, 1998, 1251 ~ 1255
- [2] De Vriese As, Robbrecht DL, Van holdr RC, et al. Rifampicin - associated acute renal: Pathophysiologic, immunologic and clinical features. Am J Kidney - Dis, 1998, 31 (1): 108 ~ 115
- [3] 张德林,刘贤德.血液透析治疗利福平致急性肾衰合并血小板减少性紫癜 2 例.综合临床医学,1995,11 (1): 35
- [4] 陆奇志.葛根素不良反应国内文献的系统性综述.药物流行病学杂志,2001,10 (4): 185 ~ 187
- [5] 智丽敏,张志清.葛根素注射液不良反应文献综述.药物流行病学杂志,2002,11 (7): 555 ~ 556
- [6] 朱玉珍,赵明辉,马明信.利福平抗体致病危害临床分析.中华医学临床杂志,2001,1 (3): 235 ~ 236
- [7] 朱玉珍,汪波,马明信.葛根素致急性溶血和肾功能衰竭的致病机制探讨.中国新药与临床杂志,2003,22 (11): 699 ~ 702
- [8] 朱玉珍,赵明辉,王玉,等.利福平中毒实验诊断及致病机制.北京大学学报(医学版),2001,12,33 (6): S42 ~ S45