

# Диагностическое значение метода определения диэлектрической проницаемости крови для выявления сенсibilизации к пенициллину G и цефтриаксону

Э.Н. Солошенко<sup>1</sup>, А.К. Кондакова<sup>1</sup>, Н.В. Хмель<sup>2</sup>, В.Г. Колесников<sup>2</sup>, З.М. Шевченко<sup>1</sup>, Т.П. Ярмак<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

<sup>2</sup> Институт радиопhизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины

## Резюме

**Цель исследования** – определение диагностического значения диэлектрических параметров образцов цельной крови в присутствии пенициллина G и цефтриаксона у больных хроническими дерматозами с сенсibilизацией к антибиотикам в анамнезе.

**Материалы и методы.** Были обследованы 15 больных аллергодерматозами, 10 больных ограниченной склеродермией с сенсibilизацией к антибиотикам в анамнезе и 15 практически здоровых доноров (группа контроля). Определяли реальную часть комплексной диэлектрической проницаемости ( $\epsilon'$ ) крови интактных образцов (не нагруженных антибиотиками) и опытных образцов (нагруженных антибиотиками) методом микроволновой диэлектromетрии. Оценивали изменение относительного количества свободной и связанной воды в опытных образцах крови по отношению к интактным образцам. Пробы крови, стабилизированные 0, 109 M раствором трехзамещенного лимоннокислого натрия, инкубировали в присутствии цефтриаксона и пенициллина G в течение 2 ч при температуре 37 °C. Концентрация используемых антибиотиков составила 250 мкг/мл. Сенсibilизацию к цефтриаксону и пенициллину G у больных выявляли с помощью аллергологических тестов: реакции агломерации лейкоцитов (РАЛ) и скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

**Результаты.** Диэлектрическая проницаемость интактных и опытных образцов крови практически здоровых доноров существенно не отличалась и составила  $\epsilon' = (1,97 \pm 0,017) \times 10^{-10}$  Ф/м и  $\epsilon' = (1,965 \pm 0,019) \times 10^{-10}$  Ф/м соответственно. Существенная разница по  $\epsilon'$  регистрировалась в интактных и опытных образцах больных с различными формами дерматозов с сенсibilизацией к антибиотикам в анамнезе, причем более выраженной она была у больных ограниченной склеродермией:  $\epsilon' = (1,863 \pm 0,011) \times 10^{-10}$  Ф/м в присутствии пенициллина G и  $\epsilon' = (1,903 \pm 0,014) \times 10^{-10}$  Ф/м в присутствии цефтриаксона. Более существенное увеличение количества связанной воды в опытных образцах крови, нагруженных пенициллином G, по сравнению с цефтриаксоном, возможно, связано с наличием большего количества гидратационных центров связывания в комплексе «белок–метаболит пенициллина G». Получена корреляционная зависимость диэлектрических параметров со значениями СОЭ и РАЛ: для пенициллина G – СОЭ-диэлектromетрия ( $r_s = +0,934$ ), РАЛ-диэлектromетрия ( $r_s = +0,883$ ); для цефтриаксона – СОЭ-диэлектromетрия ( $r_s = +0,917$ ), РАЛ-диэлектromетрия ( $r_s = +0,871$ ).

**Выводы.** Показана целесообразность определения диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  крови в условиях клиники в качестве дополнительного скрининг-теста определения сенсibilизации для выявления развития аллергической реакции на антибиотики пенициллинового и цефалоспоринового ряда.

**Ключевые слова:** сенсibilизация, экспресс-оценка, пенициллин G, цефтриаксон, диэлектрическая проницаемость, скорость оседания эритроцитов, реакция агломерации лейкоцитов.

**DOI:** 10.33743/2308-1066-2021-2-25-30

## Введение

Пенициллины и цефалоспорины благодаря своей высокой антибактериальной активности к широкому спектру грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов являются традиционно незаменимыми препаратами в медицинской практике на протяжении многих десятилетий. Кроме того, цефалоспорины I поколения, история создания которых датируется серединой 70-х годов XX в., до настоящего

времени остаются антибиотиками первой линии для профилактики воспалительных процессов при хирургических вмешательствах [22]. Согласно данным Европейской комиссии по контролю потребления антимикробных препаратов, темпы и масштабы использования пенициллинов и цефалоспоринов стремительно увеличиваются, несмотря на учащение регистрации опасных для жизни аллергических реакций [17].

Определяющим моментом в необходимости своевременного выявления сенсibilизации к этим антибиотикам является регистрация случаев смертельного исхода в результате аллергической реакции, развивающейся по механизму гиперчувствительности немедленного типа, что составляет в среднем 2% случаев терапии пенициллином G и цефтриаксоном [19]. Среди факторов риска, которые провоцируют и запускают IgE-опосредованные реакции, выделяют парентеральное введение высоких доз, повторное или частое применение антибиотиков, а также возраст; самые тяжелые аллергические реакции проявляются в возрасте от 20 до 50 лет [14, 16, 18]. Эти факты подталкивают исследователей к более детальному изучению молекулярного механизма действия этих антибиотиков с учетом их физико-химических и биологических свойств.

Современные диагностические алгоритмы направлены на своевременное выявление сенсibilизации к лекарственным средствам с целью предотвращения тяжелых последствий реакций гиперчувствительности немедленного типа, в том числе к антибиотикам пенициллинового и цефалоспоринового ряда. К сожалению, службой по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and drug administration; FDA) определение специфического IgE одобрено для небольшого числа лекарственных средств. Поэтому в условиях клиники прочное место в диагностике аллергии на системные антибактериальные средства занимают международно сертифицированные кожные и провокационные пробы [24, 26], составляются алгоритмы учета, анализа и интерпретации проб при проведении теста активации базофилов [7, 8].

Среди широко используемых *in vitro* методов диагностики аллергической реакции к лекарственным средствам заслуживают внимания реакция аллерген-специфического повреждения лейкоцитов, реакция выброса миелопероксидазы, тест угнетения аллергеном люминол-зависимой хемилюминесценции сенсibilизированных лейкоцитов, а также реакция выброса калия из сенсibilизированных лейкоцитов [4]. Хотя, по мнению некоторых авторов, в настоящее время считать биохимические методы диагностики лекарственной болезни *in vitro* достаточно надежными для клинической практики нельзя [20].

Поэтому аллергологи все чаще используют биофизические методы, позволяющие выявлять критерии оценки сенсibilизации, основанные на физико-химических изменениях в биологической системе крови, такие как скорость оседания эритроцитов (СОЭ), реакция агломерации лейкоцитов (РАЛ), диэлектрическая проницаемость, поверхностное натяжение плазмы крови [5].

Диэлектрическая проницаемость биологического материала среди них является наиболее прецизионным критерием, так как характеризует распределение зарядов на поверхности макромолекул, поляризацию и характеристики их ионного окружения, дипольные моменты аминокислот и пептидов. Диэлектрические параметры цельной крови, ее форменных элементов, плазмы крови, а также растворы белков и аминокислот интенсивно исследуются в диапазоне миллиметровых и субмиллиметровых волн [2, 25].

Физическим смыслом диэлектromетрии частотного диапазона  $f = 10\text{--}50$  ГГц (область  $\gamma$ -дисперсии

диэлектрической проницаемости свободной воды) является учет структурной и энергетической гетерогенности гидратной оболочки макромолекул [1]. При этом изменение структурно-динамических свойств биологических макромолекул в присутствии лекарственных препаратов является результатом перераспределения между количеством связанной с биополимерами и свободной воды, что, в свою очередь, определяется параметрами реальной и мнимой части комплексной диэлектрической проницаемости биологической системы [12, 13, 23].

**Цель работы** – определить диагностическое значение диэлектрических параметров образцов цельной крови в присутствии пенициллина G и цефтриаксона у больных хроническими дерматозами с сенсibilизацией к антибиотикам в анамнезе.

### Материалы и методы исследования

Объектом исследования была венозная кровь, взятая утром натощак из локтевой вены и стабилизированная 0,109 М раствором трехзамещенного лимоннокислого натрия. Критерии исследования: кровь была взята у больных хроническими дерматозами с аллергией к антибиотикам в анамнезе и практически здоровых доноров в возрасте от 20 до 70 лет. У всех обследованных было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Были сформированы три группы: 1-я группа (аллергодерматозы) – образцы крови, полученные от больных атопическим дерматитом и истинной экземой (15 пациентов); 2-я группа (аутоиммунные заболевания) – кровь, полученная от больных ограниченной склеродермией (10 пациентов); 3-я группа (контроль) – образцы крови 15 практически здоровых доноров (без сопутствующей острой патологии, кожных заболеваний и аллергии в анамнезе).

Все пациенты находились на лечении в ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины». В качестве лекарственных аллергенов были использованы пенициллин G и цефтриаксон.

В биофизическом эксперименте исследовали диэлектрическую проницаемость венозной крови интактных (с одинаковыми объемами цитратной крови и физиологического раствора) и опытных (с одинаковыми объемами цитратной крови и раствора пенициллина G в концентрации 250 мкг/мл либо цефтриаксона в концентрации 250 мкг/мл) образцов. Содержимое пробирок хорошо перемешивали и инкубировали в термостате 2 ч при температуре 37 °С. Оценивали изменение относительного количества свободной и связанной воды в интактных и опытных образцах по изменению параметра  $\epsilon'$  с помощью метода микроволновой диэлектromетрии на частоте  $f = 37,7$  ГГц [6].

Преимущество используемой частоты генерации в том, что она входит в диапазон частот  $\gamma$ -дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды [3], где определяется гидратация макромолекул в переменном электромагнитном поле с точностью относительных измерений  $\Delta\epsilon' (\pm 0,7\%)$ ; абсолютных измерений  $\Delta\epsilon' (\pm 1,73 \times 10^{-12} \text{ Ф/м})$ . Оценка диэлектрических параметров крови объемом 10 мкл проводилась в течение 2 мин. Регистрация и обработка полученных данных выполнялась с использованием стандартных программ обработки электромагнитного сигнала, включающих

быстрое преобразование Фурье с функцией фильтра Blackmann-Harris.

Сенсибилизацию к лекарственным препаратам выявляли в лаборатории аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины» путем определения СОЭ в присутствии изучаемых антибиотиков по методу Панченкова и методом РАЛ. Определение СОЭ крови в присутствии предполагаемого аллергена является неспецифическим лабораторным скрининговым тестом, изменение которого служит признаком развития сенсибилизации на лекарственные средства. СОЭ определяли с использованием силиконизированных капилляров объемом 100 мкл в аппарате Панченкова в разведенной цельной венозной крови за определенный промежуток времени (через 1, 2 и 3 ч) при комнатной температуре и выражали в миллиметрах [9].

Метод РАЛ основан на эффекте усиления склеивания лейкоцитов *in vitro* при добавлении в цельную кровь аллергена, сенсибилизацию к которому требуется определить. Подготовка к РАЛ аналогична описанной выше для биофизического эксперимента. Затем на обезжиренных предметных стеклах готовили по 2 толстых капли для контроля и для опыта. Высушенные нефиксированные препараты окрашивали 0,01% раствором метиленового синего в течение 10 мин. Оценку реакции проводили под микроскопом путем подсчета крупных агрегатов лейкоцитов. Реакция считалась положительной при наличии в поле зрения микроскопа более 3 крупных агломератов по 10–12 и более лейкоцитов в каждом.

Полученные результаты обрабатывали статистически. Проведены расчеты среднего арифметического ( $M$ ), стандартного отклонения ( $m$ ). Проверка нормальности распределения количественных признаков, которая проводилась с использованием критерия Колмогорова–Смирнова, показала

наличие положительного теста в 3 выборках из всех 27. Исследование взаимосвязи между количественными признаками осуществляли при помощи коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ). С помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни определяли достоверность полученных результатов. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистическую обработку результатов измерений проводили с использованием пакета прикладных программ Excel, STATISTIKA 6.0 [10] и SigmaStat 3.5.

При выполнении работы придерживались принципов и рекомендаций, прописанных в Хельсинской декларации прав человека и соответствующих законах Украины об охране здоровья пациентов, моральных и этических стандартах.

### Результаты исследования

Результаты измерения реальной части комплексной диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  цельной крови, параметра  $\Delta L$ , характеризующего СОЭ, а также результаты измерения РАЛ в интактных и опытных образцах представлены в таблицах 1 и 2.

Согласно полученным данным, сенсибилизация к пенициллину G и цефтриаксону у обследованных пациентов была подтверждена двумя скрининговыми методами: РАЛ и СОЭ в присутствии данных антибиотиков (см. таблицу 1). Анализ СОЭ крови показал: больным ограниченной склеродермией присущи достоверно большие показатели СОЭ и РАЛ по сравнению с практически здоровыми донорами, причем в опытных образцах регистрировали повышение СОЭ и РАЛ в среднем в 3 раза. Уровень СОЭ и РАЛ у больных аллергодерматозами также был существен: в присутствии пенициллина G и цефтриаксона эти показатели увеличивались почти в 2 раза по сравнению с группой практически здоровых доноров.

Таблица 1. СОЭ  $\Delta L$  (мм), показатель РАЛ в присутствии пенициллина G и цефтриаксона в образцах крови здоровых доноров и больных дерматозами ( $M \pm m$ )

Пробы крови групп обследованных	Интактные образцы		Опытные образцы, пенициллин G		Опытные образцы, цефтриаксон	
	$\Delta L$ (мм)	РАЛ (ед)	$\Delta L$ (мм)	РАЛ (ед)	$\Delta L$ (мм)	РАЛ (ед)
Практически здоровые доноры I, n = 15	8,3 ± 0,892	1,74 ± 0,093	7,6 ± 0,939	1,67 ± 0,021	7,9 ± 1,162	1,68 ± 0,019
Больные ограниченной склеродермией II, n = 10	11,5 ± 1,501	1,83 ± 0,023	24,0 ± 1,776*	5,4 ± 0,091*	23,7 ± 1,685*	5,1 ± 0,125*
Больные аллергодерматозами III, n = 15	9,0 ± 1,082	1,7 ± 0,009	16,0 ± 1,598*	3,0 ± 0,134*	16,5 ± 1,637*	2,9 ± 0,091*

Примечание: \* отличия по сравнению с показателями контрольных образцов достоверны ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Диэлектрическая проницаемость образцов крови в присутствии пенициллина G и цефтриаксона у здоровых доноров и больных дерматозами ( $M \pm m$ )

Пробы крови групп обследованных	Интактные образцы, $\epsilon' \times 10^{-10}$ (Ф/м)	Опытные образцы, $\epsilon' \times 10^{-10}$ (Ф/м)	
		пенициллин G	цефтриаксон
Практически здоровые доноры I, n = 15	1,97 ± 0,017	1,96 ± 0,019	1,965 ± 0,019
Больные ограниченной склеродермией II, n = 10	1,953 ± 0,012	1,863 ± 0,011*	1,903 ± 0,014*
Больные аллергодерматозами III, n = 15	1,947 ± 0,014	1,907 ± 0,011*	1,937 ± 0,009*

Примечание: \* отличия по сравнению с показателями контрольных образцов достоверны ( $p < 0,05$ ).

Как видно из таблицы 2, в интактных и опытных образцах практически здоровых доноров показатель  $\epsilon'$  изменялся в пределах погрешности. В интактных образцах крови больных аллергодерматозами и ограниченной склеродермией отмечалась тенденция к образованию большего количества связанной воды по сравнению с группой практически здоровых доноров, при этом регистрировали уменьшение  $\epsilon'$  в среднем на  $(0,02 \pm 0,012) \times 10^{-10}$  Ф/м в обеих группах больных.

В опытных образцах наблюдали достоверно большее увеличение количества связанной воды по сравнению с интактными образцами. Причем более связанной вода была в опытных образцах крови, нагруженных пенициллином G, больных ограниченной склеродермией ( $\Delta\epsilon' = (0,09 \pm 0,012) \times 10^{-10}$  Ф/м), чем больных аллергодерматозами ( $\Delta\epsilon' = (0,04 \pm 0,011) \times 10^{-10}$  Ф/м).

В опытных образцах крови, инкубированных с цефтриаксоном, также наблюдался эффект связывания воды, но менее выраженный по сравнению с влиянием пенициллина G (см. таблицу 2). В образцах крови, полученных от пациентов с ограниченной склеродермией, показатель  $\Delta\epsilon'$  составил  $(0,05 \pm 0,012) \times 10^{-10}$  Ф/м; при аллергодерматозах изменение  $\epsilon'$  оставалось в пределах погрешности.

**Обсуждение результатов.** Сенсibilизация к пенициллину G и цефтриаксону у обследованных больных аллергодерматозами и ограниченной склеродермией была подтверждена с помощью критериев СОЭ и РАЛ (см. таблицу 1). Результаты экспериментального исследования показали прямую корреляционную зависимость между параметром  $\epsilon'$  и показателями СОЭ и РАЛ в опытных образцах крови больных ограниченной склеродермией и аллергодерматозами.

Чем выше были показатели СОЭ и РАЛ, тем большее количество связанной воды регистрировали по  $\epsilon'$ . В опытных образцах крови, нагруженных пенициллином G, эта зависимость была более выраженной по сравнению с действием цефтриаксона. Коэффициент корреляции полученных данных составил: для пенициллина G – СОЭ-диэлектрометрия ( $r_s = +0,934$ ), РАЛ-диэлектрометрия ( $r_s = +0,883$ ); для цефтриаксона – СОЭ-диэлектрометрия ( $r_s = +0,917$ , РАЛ-диэлектрометрия ( $r_s = +0,871$ ).

Согласно данным современных литературных источников, сенсibilизация к лекарственным препаратам связана с особенностями химической структуры пенициллинов и цефалоспоринов (рис. 1) [11]. Являясь

гаптенами с молекулярной массой около 3–5 кДа, пенициллин G и цефтриаксон не проявляют свою иммуногенность до тех пор, пока не метаболизируются на иммунологически реактивные главные и второстепенные антигенные детерминанты [15, 21], которые непосредственно генерируют IgE-специфические иммунные ответы. В отличие от пенициллина G, который при деградации сохраняет структуру тиазолидинового кольца и теряет целостность  $\beta$ -лактамного кольца, процесс деградации цефтриаксона сопровождается разрушением как дигидротиазинового, так и  $\beta$ -лактамного кольца. Кроме того, атом N5  $\beta$ -лактамной группы цефтриаксона менее склонен к образованию связей с аминокислотными остатками в отличие от атома N4  $\beta$ -лактамной группы пенициллинов, что связано со стереохимической организацией самой молекулы цефалоспоринона. Согласно данным рентгеноструктурного анализа, атом N5 находится в состоянии  $sp^2$ -гибридизации, при этом его негибридная p-орбиталь сопряжена с двойной связью C=C дигидротиазинового кольца [27].

Электронное состояние N4  $\beta$ -лактамной группы пенициллинов ближе к  $sp^3$ -, чем к  $sp^2$ -гибридизации, вследствие чего атом N4 может образовывать донорно-акцепторные связи с полярными положительно заряженными аминокислотными остатками лизина и полярными гетероциклическими радикалами гистидина [15] и тем самым увеличивать гидратацию системы «кровь–пенициллин G». Полученные данные позволяют предположить, что, вероятно, происходит связывание белковых макромолекулярных комплексов с минорными метаболитами пенициллина G по гидрофильному типу.

Достаточно высокое количество связанной воды в присутствии цефтриаксона, возможно, объясняется связью полярной аминогруппы с R1 боковой цепью цефтриаксона, так как атом азота  $NH_2$ -группы имеет неподдельную электронную пару на  $sp^3$ -гибридной орбитале и может протонироваться с образованием донорно-акцепторных связей [27].

Таким образом, в опытах *in vitro* установлено влияние пенициллина G и цефтриаксона на диэлектрическую проницаемость цельной крови больных с сенсibilизацией к данным препаратам, что позволяет рекомендовать использование  $\epsilon'$  цельной крови в качестве дополнительного критерия в комплексе скрининг-тестов для выявления сенсibilизации к пенициллину G и цефтриаксону *in vitro*.

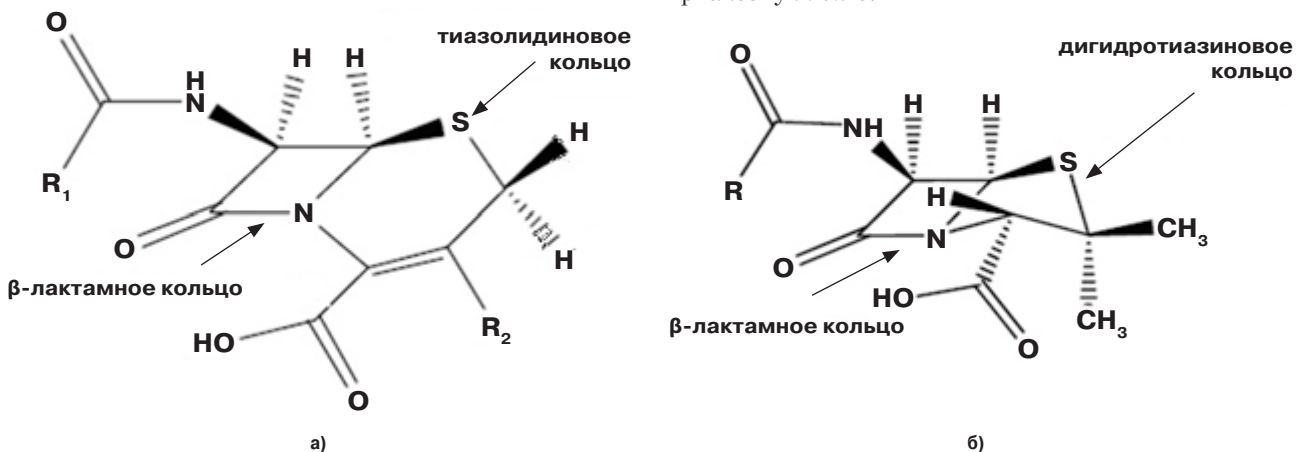


Рис. 1. Химическая структура  $\beta$ -лактамных антибиотиков: а - цефалоспорины, б - пенициллины

## Выводы

1. Виявлені различия в параметре  $\epsilon'$  цельной крови в присутствии пенициллина G и цефтриаксона у больных хроническими дерматозами с сенсибилизацией к антибиотикам в анамнезе.
2. Показано, что в группах обследованных пациентов более гидратированной оказалась система «цельная кровь – пенициллин G» по сравнению с системой «цельная кровь – цефтриаксон», что предполагает

## Литература

1. Аксенов С.И. Вода и ее роль в регуляции биологических процессов. Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2004. 212 с.
2. Диэлектрическая проницаемость эритроцитов при действии местных анестетиков амидной группы / Э.Н. Солошенко, Н.В. Хмель, А.К. Кондакова [и др.]. Дерматология и венерология. 2016. № 2(72). С. 83–91.
3. Диэлектрические свойства чистых жидкостей: под ред. Я.Ю. Ахадова. М.: Издательство стандартов, 1972. 412 с.
4. Новиков П.Д., Новиков Д.К., Титова Н.Д. Диагностика аллергии и гиперчувствительности: ведущее значение клеточных методов. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2016. № 4. С. 25–39. <https://doi.org/10.14427/jipai.2016.4.25>
5. Оценка диэлектрической проницаемости эритроцитов при выявлении сенсибилизации к анестезирующему средству артрину с помощью метода КВЧ-диэлектротометрии / Э.Н. Солошенко, А.К. Кондакова, В.Г. Колесников [и др.]. Дерматология и венерология. 2013. № 3(61). С. 32–37.
6. Применение миллиметровых и субмиллиметровых радиоволн и их комбинации в исследовании биологических объектов: дис. ...кандидата биолог. наук: 03.00.02 / Древал Наталья Владимировна. Симферополь: Симферопольский НУ, 2009. 163 с.
7. Романова И.В., Гончаров А.Е., Дотсенко Э.А. Метод диагностики заболеваний и патологических состояний, обусловленных реакциями гиперчувствительности немедленного типа на лекарственные средства из группы противомикробных препаратов для системного применения [Электронный ресурс]. Инструкция по применению. 2017. Регистрационный № 093–1117. 01.12.2017
8. Романова И.В., Гончаров А.Е. Тест активации базофилов: технология метода и его применение в клинической практике. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2018. № 1. С. 26–34. <https://doi.org/10.14427/jipai.2018.1.26>
9. Солошенко Э.Н. Биофизические методы в этиологической экспресс-диагностике лекарственной болезни. Міжнародний медичний журнал. 2003. № 4. С. 107–110.
10. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTIKA / под ред. Реброва О.Ю. М.: МедиаСфера, 2000. 312 с.
11. Чекман И.С., Горчакова Н.А., Казак Л.И. Фармакология: учебник для студентов высших учебных заведений. Винница: Нова Книга, 2013. 792 с.
12. Чиргадзе Ю.Н., Шеголева Т.Ю. Гидратация полипептидной цепи рубредоксина по данным пространственной структуры. Молекулярная биология. 1984. Т. 18. № 4. С. 994–1000.
13. An extended dynamical hydration shell around proteins / S. Ebbinghaus, S.J. Kim, M. Heyden [et al.]. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007. Vol. 104. Issue 52. P. 20749–20752. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709207104>
14. Bhattacharya S. The facts about penicillin allergy: a review. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2010. Vol. 1. Issue 1. P. 11–17.
15. Canzani D., Aldeek F. Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. Journal of Nutrition and Human Health. 2017. Vol. 1. Issue 1. P. 28–40. <http://doi.org/10.35841/nutrition-human-health.1.1.28-40>
16. Clinical presentation and time course in hypersensitivity reactions to  $\beta$ -lactams / P.-J. Bousquet, V. Kvedariene, H.B. Co-Minh [et al.]. Allergy. 2007. Vol. 62. Issue 8. P. 872–876. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01463.x>
17. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe / M. Ferrech, S. Coenen, S. Malhotra-Kumar [et al.]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006. Vol. 58. Issue 2. P. 401–407. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl188>
18. Gonzalez-Estrada A., Radojicic C. Penicillin allergy: A practical guide for clinicians. Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2015. Vol. 82. Issue 5. P. 295–300. <https://doi.org/10.3949/ccjm.82a.14111>
19. Gruchalla R.S., Pirmohamed M. Antibiotic allergy. New England Journal of Medicine. 2006. Vol. 354. P. 601–609. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp043986>
20. Gruchalla R. Understanding drug allergies. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2000. Vol. 105. Issue 6. P. 637–644. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106156>
21. Har D., Solensky R. Penicillin and Beta-Lactam Hypersensitivity. Immunology and Allergy Clinics of North America. 2017. Vol. 37. Issue 4. P. 643–662. <https://doi.org/10.1016/j.iacl.2017.07.001>
22. IgE-mediated hypersensitivity to cephalosporins / J.L. Guéant, R. M Guéant-Rodriguez., M. Viola [et al.]. Current Pharmaceutical Design. 2006. Vol. 12. Issue 26. P. 3335–3345. <https://doi.org/10.2174/138161206778194060>
23. Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes / J. Masson, M.P. Sauviat, J.L. Martin, G. Gallot. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006. Vol. 103. Issue 13. P. 4808–4812. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510945103>
24. No cross-reactivity with cephalosporins in patients with penicillin allergy / Tadeo J. A Martinez., Rodriguez E. Perez, Sanchez Z. Almeida [et al.]. Journal of Investigational Allergy and Clinical Immunology. 2015. Vol. 25. Issue 3. P. 214–236. Retrieved from <http://www.jiacci.org/issues/vol25issue3/7-16.pdf>
25. Operation monitoring of allergic reaction to artifrin by means of EHF-dielectrometry method / E. Soloshenko, A. Kondakova, V. Kolesnikov [et al.]. Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Kharkov Symposium on Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves and Workshop on Terahertz Technologies. Kharkov, 23–28 June, 2013. P. 562–564. <https://doi.org/10.1109/msmw.2013.6622122>
26. Segovia M.G., Dumpiérrez A.M.G. Systemic reactions in anamnestic responses during penicillin allergy study. Journal of Investigational Allergy and Clinical Immunology. 2009. Vol. 19. Issue 3. P. 237–252. Retrieved from <http://www.jiacci.org/issues/vol19issue3/12-23.pdf>
27. Theoretical calculations of  $\beta$ -lactam antibiotics: Part 1. AM1, MNDO and MINDO/3 calculations of some penicillins / J. Frau, M. Coll, J. Donoso [et al.]. Journal of Molecular Structure (THEOCHEM). 1991. Vol. 231. P. 109–124. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(91\)85209-P](https://doi.org/10.1016/0166-1280(91)85209-P)

возможное связывание белковых макромолекулярных комплексов с минорными метаболитами пенициллина G по гидрофильному типу.

3. Виявлена висока кореляційна зв'язь  $\epsilon'$  с показателями СОЭ и РАЛ в присутствии пенициллина G и цефтриаксона, що указує на можливість використання  $\epsilon'$  як одного из критериев в комплексе скрининг-тестов для выявления сенсибилизации к пенициллину G и цефтриаксону *in vitro*.

## References

1. Aksenov SI. Voda i eyo rol v regulatsii biologicheskikh protsessov [Water and its role for regulation of biological processes]. Moskva-Izhevsk: Institut komputernykh issledovaniy. 2004. [In Rus.]
2. Soloshenko EN, Khmil NV, Kondakova AK, Kolesnikov VG, Shevchenko ZM, Yarmak TP. Dielektricheskaia proniaesomost eritrocitov pri deistvii mestnykh anestetikov amidnoy gruppy [The dielectric constant of erythrocytes under the action of local anesthetics of the amide group]. Dermatology and Venerology. 2016;2(72):83–91. [In Rus.]
3. Akhadov YaYu. Dielektricheskie svoystva chistyykh zhidkostey [Dielectric properties of clean liquids]. Moskva: Izdatelstvo standartov, 1972. [In Rus.]
4. Novikov PD, Novikov DK, Titova ND. Diagnostika allergii i giperchuvstvitelnosti: vedushchee znachenie kletochnykh metodov [Diagnosis of allergy and hypersensitivity: the leading significance of cellular methods]. Immunopathology, Allergology and Infectology. 2016;4:25–39. <https://doi.org/10.14427/jipai.2016.4.25> [In Rus.]
5. Soloshenko EN, Kondakova AK, Kolesnikov VG, Khmil NV, Shevchenko ZM, Yarmak TP. Otsenka dielektricheskoy proniaesomosti eritrocitov pri viavlenii sensibilizatsii k anesteziyuiushchemu sredstvu artirfinu s pomoshyu metoda KVCh-dielektrometrii [Evaluation of the erythrocyte dielectric constant in detecting sensitization to an arthritin anesthetic using EHF-dielectrometry]. Dermatology and Venerology. 2013;3(61):32–37. [In Rus.]
6. Drevall NV. Primenenie millimetrovykh i submillimetrovykh radiovoln i ikh kombinatsii v issledovanii biologicheskikh obektov [The use of millimeter and submillimeter radio waves and their combination in the study of biological objects]. Candidate's of theses. Simferopol: Simferopol NU, 2009. [In Rus.]
7. Romanova IV, Goncharov AE, Dotsenko EA. Metod diagnostiki zabolevaniy i patologicheskikh sostoyaniy, obuslovlennykh reaktsiyami giperchuvstvitelnosti nemedlennogo tipa na lekarstvennyye sredstva iz grupy protivomikrobnyykh preparatov dia sistemnogo primeneniya [A method for diagnosing diseases and pathological conditions caused by immediate-type hypersensitivity reactions to drugs from the group of antimicrobial drugs for systemic use]. Instructions for use, 2017. [In Rus.]
8. Romanova IV, Goncharov AE. Test aktivatsii bazofilov: tekhnologiya metoda i ego primeneniye v klinicheskoy praktike [Basophil activation test: method technology and its application in clinical practice]. Immunopathology, Allergology and Infectology. 2018;1:26–34. <https://doi.org/10.14427/jipai.2018.1.26> [In Rus.]
9. Soloshenko EN. Biofizicheskie metody v etiologicheskoy ekspress-diagnostike lekarstvennoy bolezni [Biophysical methods in etiologicheskoy ekspress-diagnosis of drug diseases]. International medical journal. 2003;4:107–110. [In Rus.]
10. Rebrova OYu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh: primeneniye paketa prikladnykh program STATISTIKA / pod red. Rebrova O.Yu. M.: Mediasfera, 2000. 312 s.
11. Chekman IS, Horchakova NA, Kazak LI. Farmakologiya: uchebnik dlya studentov vysshiykh uchebnykh zavedeniy. Vinitsa: Nova Kniga, 2013. 792 s.
12. Chirgadze YuN, Shchegoleva Tyu. Hidratsatsiya polipeptidnoy tsepi rubredoksina po dannym prostanstvennoy struktury [Hydration of the rubredoxin polypeptide chain according to the spatial structure]. Molecular biology. 1984;18(4):994–1000. [In Rus.]
13. Ebbinghaus S, Kim SJ, Heyden M, Yu X, Heugen U, Gruebele M, Leitner DM, Havenith M. An extended dynamical hydration shell around proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007;104(52):20749–20752. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709207104>
14. Bhattacharya S. The facts about penicillin allergy: a review. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2010;1(1):11–17.
15. Canzani D, Aldeek F. Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. Journal of Nutrition and Human Health. 2017;1(1):28–40. <http://doi.org/10.35841/nutrition-human-health.1.1.28-40>
16. Bousquet PJ, Kvedariene V, Co-Minh HB, Martins P, Rongier M, Arnoux B, Demoly P. Clinical presentation and time course in hypersensitivity reactions to beta-lactams. Allergy. 2007;62(8):872–876. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01463.x>
17. Ferrech M, Coenen S, Malhotra-Kumar S, Dvorakova K, Hendrickx E, Suetens C, Goossens H. ESAC Project Group. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006;58(2):401–407. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl188>
18. Gonzalez-Estrada A, Radojicic C. Penicillin allergy: A practical guide for clinicians. Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2015;82(5):295–300. <https://doi.org/10.3949/ccjm.82a.14111>
19. Gruchalla RS, Pirmohamed M. Clinical practice. Antibiotic allergy. The New England Journal of Medicine. 2006;354(6):601–609. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp043986>
20. Gruchalla R. Understanding drug allergies. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2000;105(6Pt 2):S637–S644. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106156>
21. Har D, Solensky R. Penicillin and Beta-Lactam Hypersensitivity. Immunology and Allergy Clinics of North America. 2017;37(4):643–662. <https://doi.org/10.1016/j.iacl.2017.07.001>
22. Guéant J, Guéant-Rodriguez RM, Viola M, Valluzzi RL, Romano A. IgE-mediated hypersensitivity to cephalosporins. Current Pharmaceutical Design. 2006;12(26):3335–3345. <https://doi.org/10.2174/138161206778194060>
23. Masson JB, Sauviat MP, Martin JL, Gallot G. Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006;103(13):4808–4812. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510945103>
24. Martinez Tadeo JA, Perez Rodriguez E, Almeida Sanchez Z, Callero Viera A, Garcia Robaina JC. No Cross-Reactivity With Cephalosporins in Patients With Penicillin Allergy. Journal of Investigational Allergy and Clinical Immunology. 2015;25(3):216–217.
25. Soloshenko E, Kondakova A, Kolesnikov V, Khmil N, Shevchenko Z, Yarmak T, Korzh V. Operation monitoring of allergic reaction to artifrin by means of EHF-dielectrometry method. 2013 International Kharkov Symposium on Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves, 2013. <https://doi.org/10.1109/msmw.2013.6622122>
26. Segovia M, Garcia Dumpiérrez AM. Systemic reactions in anamnestic responses during penicillin allergy study. Journal of Investigational Allergy and Clinical Immunology. 2009;19(3):240–241.
27. Frau J, Coll M, Donoso J, Munoz F, Blanco FG. Theoretical calculations of  $\beta$ -lactam antibiotics: Part 1. AM1, MNDO and MINDO/3 calculations of some penicillins. Journal of Molecular Structure (THEOCHEM). 1991;231:109–124. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(91\)85209-P](https://doi.org/10.1016/0166-1280(91)85209-P)

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ ДІЕЛЕКТРИЧНОЇ ПРОНИКНОСТІ КРОВІ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО ПЕНІЦИЛІНУ G І ЦЕФТРІАКСОНУ

Е.М. Солошенко<sup>1</sup>, Г.К. Кондакова<sup>1</sup>, Н.В. Хміль<sup>2</sup>, В.Г. Колесніков<sup>2</sup>, З.М. Шевченко<sup>1</sup>, Т.П. Ярмач<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

<sup>2</sup> Інститут радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України

Резюме

**Мета роботи** – визначення діагностичного значення стану діелектричних параметрів зразків цільної крові в присутності пеніциліну G і цефтріаксону хворих на хронічні дерматози із сенсibilізацією до антибіотиків в анамнезі.

**Матеріали і методи.** Обстежено 15 хворих на алергодерматози, 10 хворих на обмежену склеродермію із сенсibilізацією до антибіотиків в анамнезі та 15 практично здорових донорів (група контролю). Визначали реальну частину комплексної діелектричної проникності ( $\epsilon'$ ) крові інтактних зразків (не навантажених антибіотиками) і дослідних зразків (навантажених антибіотиками) за допомогою методу мікрохвильової діелектрометрії. Оцінювали зміну відносної кількості вільної та зв'язаної води в дослідних зразках крові по відношенню до інтактних зразків. Проби крові стабілізували 0, 109 М розчином трьохзаміщеного лимоннокислого натрію, інкубували в присутності цефтріаксону і пеніциліну G протягом 2 год за температури 37 °С. Концентрація антибіотиків становила 250 мкг/мл. Сенсibilізацію до цефтріаксону і пеніциліну G у хворих виявляли за допомогою алергологічних тестів: реакції агломерації лейкоцитів (РАЛ) і швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) в присутності алергену.

**Результати.** Діелектрична проникність інтактних і дослідних зразків крові практично здорових донорів суттєво не відрізнялася і становила  $\epsilon' = (1,97 \pm 0,017) \times 10^{-10}$  Ф/м і  $\epsilon' = (1,965 \pm 0,019) \times 10^{-10}$  Ф/м відповідно. Істотну різницю по  $\epsilon'$  реєстрували в інтактних і дослідних зразках хворих з різними формами дерматозів із сенсibilізацією до антибіотиків в анамнезі, причому більш вираженою вона була у хворих на обмежену склеродермію:  $\epsilon' = (1,863 \pm 0,011) \times 10^{-10}$  Ф/м в присутності пеніциліну G та  $\epsilon' = (1,903 \pm 0,014) \times 10^{-10}$  Ф/м в присутності цефтріаксону. Суттєве збільшення кількості зв'язаної води в дослідних зразках крові, навантажених пеніциліном G, в порівнянні з цефтріаксоном, можливо, пов'язано з наявністю більшої кількості гідратаційних центрів зв'язування в комплексі «білок–метаболіт пеніциліну G». Виявлена кореляційна залежність діелектричних параметрів зі значеннями ШОЕ і РАЛ: для пеніциліну G – ШОЕ–діелектрометрія ( $r_s = +0,934$ ), РАЛ–діелектрометрія ( $r_s = +0,883$ ); для цефтріаксону – ШОЕ–діелектрометрія ( $r_s = +0,917$ ), РАЛ–діелектрометрія ( $r_s = +0,871$ ).

**Висновки.** Показана доцільність визначення діелектричної проникності  $\epsilon'$  крові в умовах клініки як додаткового скринінг-тесту визначення сенсibilізації для виявлення розвитку алергічної реакції на антибіотики пеніцилінового і цефалоспоринового ряду.

**Ключові слова:** сенсibilізація, експрес-оцінка, пеніцилін G, цефтріаксон, діелектрична проникність, швидкість осідання еритроцитів, реакція агломерації лейкоцитів.

DIAGNOSTIC VALUE OF METHOD FOR DETERMINING BLOOD DIELECTRIC CONSTANT FOR DETECTING SENSITIZATION TO PENICILLIN G AND CEFTRIAZONE

E.N. Soloshenko<sup>1</sup>, H.K. Kondakova<sup>1</sup>, N.V. Khmil<sup>2</sup>, V.G. Kolesnikov<sup>2</sup>, Z.M. Shevchenko<sup>1</sup>, T.P. Yarmak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

<sup>2</sup> O.Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics of NAS of Ukraine

Abstract

**The objective of the study** – to determine the diagnostic value of dielectric parameters of whole blood samples in the presence of penicillin G and ceftriaxone of patients with chronic dermatoses with a history of antibiotic sensitization.

**Materials and methods.** Fifteenth patients with allergic dermatoses, 10 patients with limited scleroderma with a history of antibiotic sensitization and 15 healthy donors (control group) were examined. Dielectric constant of the blood of intact samples (not loaded with antibiotics) and experimental samples (loaded with antibiotics) was determined by microwave dielectrometry. The change in the relative amount of free and bound water in the experimental blood samples in relation to the intact samples was evaluated. Blood samples were stabilized with 0, 109 M solution of trisubstituted sodium citrate and incubated in the presence of ceftriaxone and penicillin G for 2 hours at 37 °C. The concentration of antibiotics was 250 µg/ml. Sensitization to ceftriaxone and penicillin G of patients was detected using allergological tests: leukocyte agglomeration reaction (RAL) and erythrocyte sedimentation rate (ESR).

**Results.** The dielectric constant of intact and experimental blood samples from healthy donors did not significantly differ:  $\epsilon' = (1,97 \pm 0,017) \times 10^{-10}$  F/m and  $\epsilon' = (1,965 \pm 0,019) \times 10^{-10}$  F/m, respectively. A significant difference  $\epsilon'$  was recorded in intact and experimental samples of patients with various forms of dermatoses with a history of antibiotic sensitization, and it was more pronounced in patients with limited scleroderma:  $\epsilon' = (1,863 \pm 0,011) \times 10^{-10}$  F/m in the presence of penicillin G and  $\epsilon' = (1,903 \pm 0,014) \times 10^{-10}$  F/m in the presence of ceftriaxone. A more significant increase in the amount of bound water was in experimental blood samples loaded with penicillin G, compared with ceftriaxone. Perhaps this is due to the presence of a greater number of hydration binding sites in the complex «protein-metabolite of penicillin G». The correlation coefficient of the obtained data by two methods was – for penicillin G – ESR-dielectrometry ( $r_s = +0,934$ ), RAL-dielectrometry ( $r_s = +0,883$ ); for ceftriaxone – ESR-dielectrometry ( $r_s = +0,917$ ), RAL-dielectrometry ( $r_s = +0,871$ ).

**Conclusions.** The possibility of using dielectric constant of blood in a clinic is shown as an additional screening test for determining sensitization to detect the development of allergic reaction to penicillin and cephalosporin antibiotics.

**Key words:** sensitization, express-assessment, penicillin G, ceftriaxone, dielectric constant, erythrocyte sedimentation rate, leukocyte agglomeration reaction.

Сведения об авторах:

Солошенко Эльвира Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией алергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9796-4241>

Кондакова Анна Константиновна – канд. биол. наук, зам. директора по научной работе ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5052-7033>

Хмель Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины. E-mail: [khmilnatali@gmail.com](mailto:khmilnatali@gmail.com)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7916-5921>

Колесников Владимир Григорьевич – ст. науч. сотр., канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины. E-mail: [kolesnik@ire.kharkov.ua](mailto:kolesnik@ire.kharkov.ua)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7822-4774>

Шевченко Зоя Михайловна – мл. науч. сотр. лабораторией алергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0492-5348>

Ярмач Татьяна Павловна – мл. науч. сотр. лабораторией алергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3602-8589>