

Оригинальная статья

УДК: 616-07:616-079.3

<https://doi.org/10.21886/2219-8075-2022-13-1-124-128>

Тест активации базофилов в диагностике аллергических реакций на местные анестетики

О.Н. Чибисова, Г.И. Луговская, О.В. Хабарова

Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия

Автор, ответственный за переписку: Чибисова Ольга Николаевна, chibisova.okdc@gmail.com

Аннотация. Цель: оценить выявление гиперчувствительности in vitro к препаратам местной анестезии методом проточной цитометрии. **Материалы и методы:** в тесте активации базофилов проведено определение реакции гиперчувствительности на местные анестетики I, II групп (154 препарата) у 106 пациентов и Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа (CD3+CD294+) методом проточной цитофлуориметрии с использованием тест-системы Allergenicity kit. В анамнезе у обследованных пациентов отмечалась определенная пищевая и/или лекарственная непереносимость. **Результаты:** сопоставлены уровни сенсибилизации к различным группам местных анестетиков в тесте активации базофилов. Наиболее высокие уровни гиперчувствительности наблюдались к местным анестетикам, содержащим вазоконстрикторы, стабилизаторы. У пациентов с наличием гиперчувствительности к препаратам для местной анестезии наблюдалось повышение количества Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа. **Выводы:** на основе выявленной гиперчувствительности в тесте активации базофилов к препаратам местной анестезии установлены наиболее безопасные анестетики. Показана диагностическая значимость определения уровня Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа при лекарственной гиперчувствительности.

Ключевые слова: тест активации базофилов, гиперчувствительность, местные анестетики, проточная цитометрия.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Чибисова О.Н., Луговская Г.И., Хабарова О.В. Тест активации базофилов в диагностике аллергических реакций на местные анестетики. *Медицинский вестник Юга России.* 2022;13(1):124-128. DOI 10.21886/2219-8075-2022-13-1-124-128

Basophil activation test in the diagnosis of allergic reactions to local anesthetics

O.N. Chibisova, G.I. Lugovskaya, O.V. Khabarova

Regional counseling diagnostic center, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author: Olga N. Chibisova, chibisova.okdc@gmail.com

Abstract. Objective: to evaluate the detection of in vitro hypersensitivity to local anesthesia drugs by flow cytometry. **Materials and methods:** in the test of activation of basophils, the determination of the hypersensitivity reaction to local anesthetics of groups I, II (154 preparations) in 106 patients and T-lymphocytes of type 2 immune response (CD3 + CD294 +) was carried out by flow cytometry using the Allergenicity kit test system. In the history of the examined patients, there was a certain food and/or drug intolerance. **Results:** The levels of sensitization to different groups of local anesthetics were compared in the basophil activation test. The highest levels of hypersensitivity were observed to local anesthetics containing vasoconstrictors, stabilizers. In patients with hypersensitivity to drugs for local anesthesia, an increase in the number of T-lymphocytes of type 2 of the immune response was observed. **Conclusions:** based on the identified hypersensitivity in the basophil activation test to local anesthesia drugs, the safest anesthetics were established. The diagnostic significance of determining the level of T-lymphocytes of type 2 of the immune response in drug hypersensitivity is shown.

Keywords: basophil activation test, hypersensitivity, local anesthetics, flow cytometry.

Financing. The study did not have sponsorship.

For citation: Chibisova O.N., Lugovskaya G.I., Khabarova O.V. Basophil activation test in the diagnosis of allergic reactions to local anesthetics. *Medical Herald of the South of Russia.* 2022;13(1):124-128. DOI 10.21886/2219-8075-2022-13-1-124-128

Введение

Появление большого количества малотоксичных местных анестетиков (МА) привело в последние два десятилетия к существенному расширению их применения

в самых различных областях клинической стоматологии для снятия болезненности у пациентов при разнообразных терапевтических и хирургических манипуляциях. И хотя возникновение аллергических проявлений при

местной анестезии не столь часто, массовое использование в стоматологии местных анестетиков привело к увеличению абсолютного числа пациентов, у которых возникают клинические проявления аллергических реакций при использовании тех или иных местных анестетиков [1–3].

Очевидно то, что при использовании местных анестетиков, при которых ранее не отмечали аллергических реакций, наблюдается рост случаев аллергонепереносимости. Повышается процент лиц с полиаллергическими реакциями на местные анестетики, то есть повышенная чувствительность организма пациента к трём и более местным анестетикам разных групп. Эти данные полностью согласуются с многочисленными исследованиями, указывающими на то, что в современном мире в высокоразвитых странах развивается «эпидемия» аллергии. Симптомы аллергических реакций на местные анестетики относятся к группе «непредсказуемых осложнений» [1, 3].

Большинство реакций на МА являются психогенными (вазовагальными) [2–4], часто относятся к псевдоаллергическим, то есть связанными с гиперреактивностью Toll-подобных рецепторов (TLR) на поверхности базофилов и тучных клеток, с которыми непосредственно соединяются различные лекарственные препараты.

По данным литературы, истинная IgE-опосредованная реакция на МА встречается крайне редко и составляет 0,1–1% [5]. Однако описаны два типа реакций гиперчувствительности на МА обеих групп (по классификации Джелл и Кумбс): IgE-опосредованный (I тип) — крапивница, анафилаксия и IV тип — аллергический контактный дерматит, замедленный отёк на месте введения препарата [2, 4].

Таким образом, большинство клинических проявлений аллергии на местные анестетики сопровождается смешанными аллергическими реакциями разных типов, поэтому нельзя относить ту или иную нозологическую форму только к одному типу аллергических реакций. Одни авторы относят аллергию на местные анестетики к псевдоаллергическим реакциям, другие — к аллергическим, но при этом указывают на различные механизмы аллергии к местным анестетикам (Т-клеточный, IgE-зависимый), причём антигены могут находиться как в свободном, так и связанном с лейкоцитами виде. Точные механизмы неиммунных реакций на местные анестетики до сих пор остаются сложными для понимания. Обычно считается, что они являются результатом не прямой фармакологической стимуляции тучных клеток и базофилов, вызывая освобождение воспалительных медиаторов. Кроме того, возможна активация неиммунным путем системы комплемента по альтернативному пути. Псевдоаллергические реакции могут иметь и иные механизмы [4, 5].

Диагностика аллергии к лекарственным средствам для местной анестезии осложняется тем, что в ряде случаев не представляется возможным определить только на основании анамнеза характер реакции (аллергическая, псевдоаллергическая, токсическая). Кожные тесты противопоказаны пациентам с эпизодами угрожающей жизни анафилаксии в анамнезе, а также часто могут давать ложно-положительные результаты за счёт прямого раздражающего действия препаратов. В некоторых случаях проводят определение специфических IgE-антител к некоторым местным анестетикам. Но эти тесты

информативны только при аллергических реакциях немедленного типа, IgE-опосредованных. Наличие специфических Ig, относящихся к другим классам, слабо коррелирует с клиническими проявлениями и не считается достоверным признаком аллергии [2, 5, 6].

В настоящее время перспективным лабораторным методом для диагностики гиперчувствительности к лекарственным средствам является *тест активации базофилов* (ТАБ). ТАБ представляет собой провокационный тест, осуществляемый *in vitro* с использованием специфического аллергена, который активирует базофилы, несущие на поверхности антигены к нему. Данный тест, проводимый методом проточной цитометрии, позволяет оценивать большое количество лекарственных препаратов одновременно без риска для жизни и здоровья пациентов, IgE и не IgE-зависимые реакции, комплементарен результатам кожных тестов, обладает высокой чувствительностью и специфичностью [6–8].

Применение теста активации базофилов для выявления лекарственной аллергии в практике многолетней работы ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никитова МЧС России (к.б.н., ст.н.с., Н.В. Бычкова) показало высокую диагностическую значимость данного теста в определении сенсибилизации к рентгеноконтрастным веществам и местным анестетикам [6].

Цель исследования — оценка выявления гиперчувствительности *in vitro* к препаратам местной анестезии методом проточной цитометрии.

Материалы и методы

Обследованы ретроспективно 106 пациентов (154 препарата) в возрасте от 1 до 79 лет (медиана возраста — 36,8 лет). Всем обследованным проводилось определение активации базофильных гранулоцитов *in vitro* (тест активации базофилов) на местные анестетики I, II групп (разведение 1:25) и Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа (CD3+CD294+ клетки) методом проточной цитофлуориметрии с использованием тест-системы Allergenicity kit. В анамнезе у обследованных пациентов отмечалась определенная пищевая и/или лекарственная непереносимость.

Критерием включения в исследование являлось информированное согласие пациента на участие.

Постановка метода ТАБ (Allergenicity kit) включала инкубацию базофилов со специфическими (аллергеном) и неспецифическими (положительный контроль) веществами, добавление моноклональных антител CD294-FITC/CD203c-PE/CD3-PC7 для идентификации базофилов и оценки процесса их активации, лизирование эритроцитов с последующей отмывкой и учетом на проточном цитометре (не менее 500 базофилов) в мультипараметрическом протоколе с многоэтапным гейтированием. Расчетной единицей являлся индекс стимуляции (активации) — отношение количества активированных базофилов в пробе с аллергеном к количеству активированных базофилов в пробе с буферным раствором. При индексе более 1,05 реакцию в пробе с аллергеном рассматривали как позитивную.

Анализ данных проточной цитометрии выполнен с использованием программного обеспечения BD FACSDiva Software. При статистической обработке результатов использовали пакет программ Statistica 7.0.

Таблица / Table 1

Частота выявления активации базофилов in vitro на местные анестетики
Frequency of detection of activation of basophils in vitro to local anesthetics

Показатель <i>Index</i> Препарат <i>Drug</i>	Вазоконстрик- торы: эпинефрин (адреналин) <i>Vasoconstrictors:</i> <i>epinephrine</i> <i>(adrenaline)</i>	Стабилиза- торы (сульфиты) <i>Stabilizers</i> <i>(sulfites)</i>	Консерванты (парабены, ЭДТА) <i>Preservatives</i> <i>(parabens,</i> <i>EDTA)</i>	Реакция in vitro <i>In vitro</i> <i>reaction</i>	Уровень позитивности активации базофилов на препарат <i>The level of positivity of activation</i> <i>of basophils to the drug</i>		
					низкий <i>low</i> (1,05-1,10)	умеренно высокий <i>moderately</i> <i>high</i> (1,11-2,00)	высокий <i>high</i> (>2,0)
Анестетики I группы — производные эфиров бензойной кислоты (Ester-тип) <i>Group I anesthetics — derivatives of benzoic acid esters (Ester-type)</i>							
Новокаин <i>Novocaine</i>	-	-	+ (производ ное ПАБК) РАВА derivative	10/12 (83,3%)	3/12 (25,0%)	9/12 (75,0%)	0
Анестетики II группы — амидные (Amide-тип) <i>Group II anesthetics — amide (Amide-type)</i>							
Скандонест <i>Scandonest</i>	-	-	-	1/18 (5,6%)	0	1/18 (5,6%)	0
Лидокаин <i>Lidocaine</i>	-	-	+ (в ампулах) <i>(in ampoules)</i>	4/32 (12,5%)	1/32 (3,1%)	3/32 (9,4%)	0
Ультракаин Д <i>Ultracaine D</i>	-	-	+ (в ампулах) <i>(in ampoules)</i>	2/10 (20,0%)	0	2/10 (20,0%)	0
Артикаин ИНИБСА <i>Articaine INIBSA</i>	+	+	-	13/28 (46,4%)	3/28 (10,7%)	9/28 (32,1%)	1/28 (3,6%)
Ультракаин Д-С форте <i>Ultracaine D-C</i> <i>forte</i>	+	+	-	17/29 (58,6%)	7/29 (24,1%)	10/29 (34,5%)	0
Ультракаин Д-С <i>Ultracaine D-C</i>	+	+	+ (в ампулах) <i>(in ampoules)</i>	16/25 (64,0%)	4/25 (16,0%)	11/25 (44,0%)	1/25 (4,0%)

Результаты

Результаты анализа показали, что реакция гиперчувствительности in vitro отмечалась к 40,9% (63 из 154) обследованным лекарственным препаратам местной анестезии. Наиболее высокий уровень выявляемости гиперчувствительности в тесте активации базофилов наблюдался к анестетику I группы эфиров (новокаину) 10 из 12, что составило 83,3% (таблица 1).

Среди местных анестетиков II амидной группы артикаинового ряда с наиболее высокой частотой выявлялась гиперчувствительность к артикаину, содержащему вазоконстрикторы, стабилизаторы и консерванты — препараты «Ультракаин Д-С» (64,0%), «Ультракаин Д-С форте» (58,6%) по сравнению с артикаином, в котором отсутствуют данные вспомогательные вещества — «Ультракаин Д» — 20,0% соответственно.

Наименьшая сенсibilизация in vitro наблюдалась к местным анестетикам группы мепивакаина («Скандонест» — 5,6%) и лидокаина (12,5%), не содержащим вазоконстрикторов, стабилизаторов и консервантов.

Сравнительный анализ значений индекса активации базофилов на местные анестетики показал наибольшую частоту выявления умеренно высоких показателей (от 1,11 до 2,00) — 71,4%.

При количественном анализе CD3+CD294+ клеток в различных возрастных группах у пациентов с сенсibilизацией in vitro на обследованные препараты отмечалось увеличение уровня Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа с возрастом (рисунок 1).

Кроме того, у больных с лекарственной гиперчувствительностью отмечалось достоверное повышение уровня Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа (1,23±0,11,

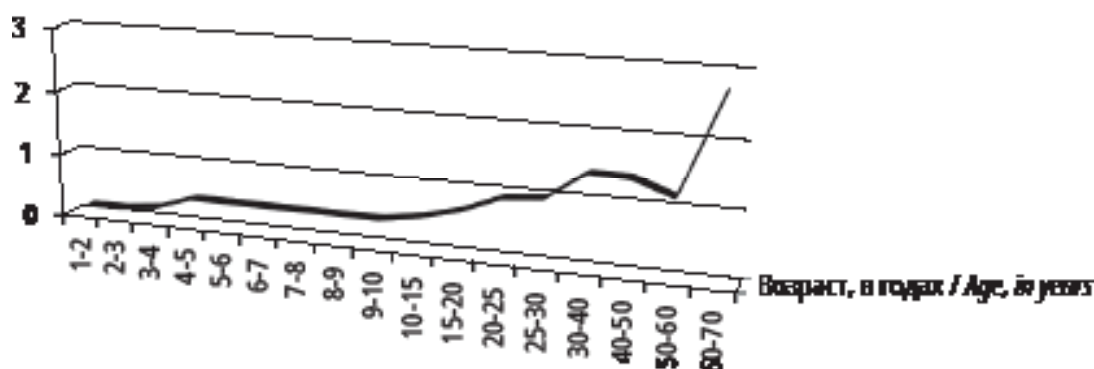


Рисунок 1. Возрастные особенности количества CD3+CD294+ клеток при наличии сенсibilизации in vitro к местным анестетикам (в %)

Figure 1. Age features of the number of CD3 + CD294 + cells in the presence of in vitro sensitization to local anesthetics (in %)

$P < 0,05$) по сравнению с пациентами, не имеющих сенсibilизации к обследованным местным анестетикам ($0,82 \pm 0,16$).

Обсуждение

Полученные результаты согласуются с данными литературы [1–6] и проведенных исследований в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никитина МЧС России (Н.В. Быкова). Действительно, считается, что местные анестетики эфирной группы (новокаин) более аллергенны, чем амидной. Это связывают с парааминобензойной кислотой (ПАБК) или метилпарабеном. ПАБК является метаболитом новокаина и производным многих лекарственных средств, имеет похожее строение с парабенами (консервантами), что может вызывать перекрестные аллергические реакции [4]. Местные анестетики II амидной группы артикаинового ряда не высвобождают метаболит типа ПАБК, но содержат вазоконстрикторы, стабилизаторы, консерванты [3–5]. Согласно литературным данным, чаще всего причиной неблагоприятных реакций на местные анестетики является не действующее вещество, а наличие вспомогательных компонентов-наполнителей (вазоконстрикторы (адреналин), стабилизаторы (дисульфит натрия или калия), консерванты (парабены, ЭДТА)), которые входят в состав данных

лекарственных средств. Р. Russo и соавт. также доказали, что выраженные аллергические реакции чаще вызывают консерванты, в частности, динатриевая соль ЭДТА, которая входит в состав некоторых местных анестетиков [4, 5].

Повышение уровня Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа у пациентов с наличием гиперчувствительности к местным анестетикам может быть связано со способностью данных клеток поддерживать синтез иммуноглобулина Е плазматическими клетками. Увеличение уровня CD3+CD294+ клеток у пациентов с сенсibilизацией in vitro на обследованные препараты с возрастом может указывать на длительность развития и выраженность патологических процессов, связанных с реакциями гиперчувствительности.

Заключение

Выявлена наибольшая гиперчувствительность для местного анестетика I группы эфиров (новокаина) и наименьшая — для препаратов группы мепивакаина и лидокаина. Среди анестетиков артикаинового ряда II амидной группы наиболее безопасным является Ультракаин Д. Установлено достоверное повышение количества Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа у пациентов с наличием гиперчувствительности к препаратам для местной анестезии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корячкин В.А., Герасков Е.В., Казарин В.С., Лисков М.А., Моханна М., и др. Системная токсичность местных анестетиков при регионарной анестезии. *Регионарная анестезия и лечение острой боли*. 2015;9(3):С.45–50. eLIBRARY ID: 24066730
2. Лазаренко Л.Л., Шабанов Д.В., Сесь Т.П., Федоскова Т.Г., Тотолян А.А. Лекарственная аллергия к местным анестетикам: различные стратегии диагностики. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2020;4(1):42–47. DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-1-42-47
3. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Ягудина Р.И., Егорова Е.А., Коняева Е.И. Нежелательные реакции на местные анестетики при их применении в стоматологии. *Стоматология*. 2020;99(6):82–88. DOI: 10.17116/stomat20209906182

REFERENCES

1. Koryachkin VA, Geras'kov EV, Kazarin VS, Lis'kov MA, Mokhanna M, et al. Systemic toxicity of local anesthetics in regional anesthesia. *Regional anesthesia and acute pain management*. 2015;9(3):C.45–50. (In Russ.). eLIBRARY ID: 24066730
2. Lazarenko L.L., Shabanov D.V., Ses' T.P., Fedoskova T.G., Totolyan A.A. https://www.elibrary.ru/item.asp42999538Drug allergy to local anesthetics: a variety of diagnostic strategies. *Russian Medical Review*. 2020;4(1):42–47. DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-1-42-47.
3. Matveev AV, Krashenninnikov AE, Yagudina RI, Egorova EA, Konyaeva EI. Adverse drug reactions of local anesthetics used in dentistry. *Stomatologiya*. 2020;99(6):82–88. (In Russ.). DOI: 10.17116/stomat20209906182

4. Baluga JC, Casamayou R, Carozzi E, López N, Anale R, et al. Allergy to local anaesthetics in dentistry. Myth or reality? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2002;30(1):14-9. DOI: 10.1016/S0301-0546(02)79081-2.
5. Fisher MM, Bowey CJ. Alleged allergy to local anaesthetics. *Anaesth Intensive Care*. 1997;25(6):611-4. DOI: 10.1177/0310057X9702500602.
6. Бычкова Н.В. Возможности лаборатории в диагностике лекарственной гиперчувствительности. *Российский иммунологический журнал*. 2019;13(2-1):180-182. DOI: 10.31857/S102872210006446-5
7. Романова И.В., Гончаров А.Е. Тест активации базофилов: технология метода и его применение в клинической практике. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2018;(1):26-34. DOI: 10.14427/jipai.2018.1.26
8. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. 2015;70(11):1393-405. DOI: 10.1111/all.12698.
4. Baluga JC, Casamayou R, Carozzi E, López N, Anale R, et al. Allergy to local anaesthetics in dentistry. Myth or reality? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2002;30(1):14-9. DOI: 10.1016/S0301-0546(02)79081-2.
5. Fisher MM, Bowey CJ. Alleged allergy to local anaesthetics. *Anaesth Intensive Care*. 1997;25(6):611-4. DOI: 10.1177/0310057X9702500602.
6. Bychkova N.V. Laboratory possibility in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Russian Journal of Immunology*. 2019;13(2-1):180-182. (In Russ.). DOI: 10.31857/S102872210006446-5
7. Ramanava I.U., Hancharou A.Y. The Basophil activation test: technology of the method and its application in clinical Practice. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2018;(1):26-34. (In Russ.). DOI: 10.14427/jipai.2018.1.26
8. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. 2015;70(11):1393-405. DOI: 10.1111/all.12698.

Информация об авторах

Чибисова Ольга Николаевна, к.б.н., биолог лаборатории клинической биохимии, иммунологии и молекулярной биологии, Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия, chibisova.okdc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9075-6220>

Луговская Галина Ивановна, врач клинической лабораторной диагностики, заведующая лабораторией клинической биохимии, иммунологии и молекулярной биологии, Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия, gilugovskaya10@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1726-4542>

Хабарова Ольга Витальевна, к.б.н., врач лаборатории клинической биохимии, иммунологии и молекулярной биологии, Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия, ovhabarova@omldc-rnd.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3841-7691>

Information about the authors

Olga N. Chibisova, Cand. Sci. (Bio.), biologist of the laboratory of clinical biochemistry, immunology and molecular biology, Regional counseling diagnostic center, Rostov-on-Don, Russia, chibisova.okdc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9075-6220>

Galina I. Lugovskaya, doctor of clinical laboratory diagnostics, head of the laboratory of clinical biochemistry, immunology and molecular biology, Regional counseling diagnostic center, Rostov-on-Don, Russia, gilugovskaya10@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1726-4542>

Olga V. Khabarova, Cand. Sci. (Bio.), doctor of the laboratory of clinical biochemistry, immunology and molecular biology, Regional counseling diagnostic center, Rostov-on-Don, Russia, ovhabarova@omldc-rnd.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3841-7691>

Вклад авторов:

О.Н. Чибисова — разработка дизайна исследования, получение и анализ данных;

Г.И. Луговская — написание текста рукописи;

О.В. Хабарова — обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contribution

O.N. Chibisova — research design development, obtaining and analysis of the data;

G.I. Lugovskaya — writing the text of the manuscript;

O.V. Khabarova — review of publications on the topic of the article.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Н.В. Бычковой, к.б.н., старшему научному сотруднику лаборатории клинической иммунологии отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, за методическую помощь при получении результатов теста активации базофилов, предоставленных в данной статье.

Acknowledgements

The authors are grateful to N.V. Bychkova, Ph.D., Senior Researcher of the Laboratory of Clinical Immunology of the Department of Laboratory Diagnostics The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia, Saint- Petersburg, for methodological assistance in obtaining the results of the basophil activation test provided in this article.

Поступила в редакцию / Received: 22.11.2021

Доработана после рецензирования / Revised: 24.02.2022

Принята к публикации / Accepted: 24.02.2022