

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Бычкова Н.В.^{1,2}, Селиванов П.А.³, Калинина Н.М.^{1,2}

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ЙОДСОДЕРЖАЩИМ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫМ ВЕЩЕСТВАМ В ТЕСТЕ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

¹ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России 194044, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург, Россия;

³ФГКУЗ 3 Военный госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации, 192171, г. Санкт-Петербург, Россия

Использование йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ необходимо в медицинской практике. У ряда пациентов возникают нежелательные побочные эффекты различной природы и тяжести при введении этих препаратов. Рутинное аллергологическое обследование не обеспечивает адекватную диагностику реакций на препараты этой группы. Цель работы – оценить возможности теста активации базофилов для подтверждения сенсibilизации к неионным йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам, а также для выбора безопасного альтернативного препарата у пациентов с отягощенным анамнезом. Тест активации базофилов методом проточной цитометрии был проведен 184 пациентам ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России и 32 волонтерам с использованием препаратов ультравист, омнипак, оптирей. Оценивали наличие сенсibilизации на основании индекса активации базофилов, а также спонтанную и индуцированную анти-IgE антителами активацию базофилов и популяцию T-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа. У волонтеров не было выявлено сенсibilизации к йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам. У пациентов со средней степенью реакции гиперчувствительности in vivo сенсibilизация in vitro к препаратам выявлена в 4 раза чаще, чем при легкой степени (51% по сравнению с 13,5%). У пациентов с системными реакциями на введение известного препарата сенсibilизация in vitro подтверждена в 86% случаев, при этом частота выявления сенсibilизации к препаратам не различалась. Спонтанная активация базофилов у пациентов и T-лимфоциты 2 типа были в 2 раза выше, чем у волонтеров. У пациентов чаще выявляли низкую (менее 30%) активацию базофилов на анти-IgE антитела. Специфичность теста активации базофилов с рентгеноконтрастными веществами составила 100% при чувствительности 94,1%. У большинства пациентов была возможность подобрать контрастное вещество, не вызывающее сенсibilизацию. Включение в алгоритм обследования спонтанной и индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов и популяции T-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа позволит врачу осуществлять персонализированный подход к ведению пациентов с отягощенным анамнезом.

Ключевые слова: тест активации базофилов; реакции гиперчувствительности; йодсодержащие рентгеноконтрастные вещества; T-лимфоциты 2 типа иммунного ответа.

Для цитирования: Бычкова Н.В., Селиванов П.А., Калинина Н.М. Клиническая значимость выявления сенсibilизации к йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам в тесте активации базофилов методом проточной цитометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (12): 747-754
DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-747-754>

Для корреспонденции: Бычкова Наталья Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клин. иммунологии ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, доц. каф. иммунологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова; e-mail: BNV19692007@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 02.07.2021

Принята к печати 02.09.2021

Опубликовано 22.12.2021

Buchkova N.V.^{1,2}, Selivanov P.A.³, Kalinina N.M.^{1,2}

CLINICAL IMPLICATION OF DETECTING SENSITIZATION TO IODINATED RADIOCONTRAST MEDIA IN THE BASOPHIL ACTIVATION TEST BY FLOW CYTOMETRY

¹The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» EMERCOM of Russia, 194044, St. Petersburg, Russia;

²Saint-Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov the Ministry of Russian Federation for Medicine, 197022, St. Petersburg, Russia;

³Military Hospital of the National Guard Troops of the Russian Federation, 192171, St. Petersburg, Russia

The use of iodinated radiocontrast media is necessary for visualization. A number of patients have adverse effects of various nature and severity when these drugs are administered. Routine allergy tests do not provide adequate diagnosis of reactions to drugs in this group. The aim of this work is to assess the capabilities of the basophil activation test to confirm sensitization to non-ionic iodinated radiocontrast media, as well as to select a safe alternative drug in patients with a burdened history. Basophil activation test by flow cytometry was performed in 184 patients The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine»

EMERCOM of Russia and 32 volunteers using ultravist, omnipack, and optiray. The presence of sensitization was assessed based on the basophil activation index, as well as spontaneous and anti-IgE antibody-induced activation of basophils and the population of T-lymphocytes type 2 immune response. The volunteers showed no sensitization to iodinated radiocontrast media. In patients with a medium degree of hypersensitivity reaction in vivo, in vitro sensitization to drugs was detected 4 times more often than in patients with a mild degree (51% versus 13.5%). In patients with systemic reactions to the administration of a known drug, in vitro sensitization was confirmed in 86% of cases, while the frequency of detection of sensitization to drugs did not differ. Spontaneous activation of basophils in patients and type 2 T-lymphocytes were 2 times higher than in volunteers. Patients were more likely to have low (less than 30%) activation of basophils for anti-IgE antibodies. The specificity of the basophil activation test with iodinated radiocontrast media was 100% with a sensitivity of 94.1%. Most patients were able to select a non-sensitizing contrast. Inclusion in the algorithm of spontaneous and anti-IgE antibody-induced activation of basophils and a population of T-lymphocytes type 2 immune response will allow the doctor to carry out a personalized approach to the management of patients with a burdened history.

Key words: *basophil activation test; hypersensitivity reactions; iodinated radiocontrast media; T-lymphocytes type 2 immune response.*

For citation: Bychkova N.V., Selivanov P.A., Kalinina N.M. Clinical implication of detecting sensitization to iodinated radiocontrast media in the basophil activation test by flow cytometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (12): 747-754 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-747-754>

For correspondence: *Bychkova N.V.*, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of clinical immunology of the The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» EMERCOM of Russia, Assistant-Professor of the Department of Immunology Saint-Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov the Ministry of Russian Federation for Medicine; e-mail: BNV19692007@yandex.ru

Information about authors:

Bychkova N.V., <https://orcid.org/0000-0002-6907-2817>;
Selivanov P.A., <https://orcid.org/0000-0001-8076-8332>;
Kalinina N.M., <https://orcid.org/0000-0003-1752-6888>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 02.07.2021
Accepted 02.09.2021
Published 22.12.2021

Введение. В клинической практике использование контрастных веществ необходимо для лучшей визуализации при проведении исследований различными методами – магнитно-резонансной томографии, компьютерной томографии, урографии, коронарографии и др. Для многих из них необходимо использование йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ (йРКВ), которые являются химическими модификациями 2,4,6-трийодированного бензолного кольца. йРКВ разделяют на ионные и неионные, классифицируют по их химическим и физическим свойствам – осмоляльность, ионизация в растворе, химическая структура [1]. В результате введения йРКВ у ряда пациентов развиваются нежелательные побочные эффекты различной природы и тяжести. Частота легких анафилактических реакций при введении высокоосмолярных ионных йРКВ может достигать до 12,7%, а низкоосмолярных неионных йРКВ составляет 0,7-3,1% [2]. Риск развития тяжелых реакций на ионные йРКВ составляет 0,1-0,4%, на неионные на порядок ниже [3]. Наибольшее распространение в настоящее время имеют неионные йРКВ ввиду их большей безопасности. Согласно данным М.Н. Kim и соавт. [4], частота встречаемости реакций немедленной гиперчувствительности на введение неионных йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ составила 2,1%, при этом в 0,01% встречались тяжелые реакции. В Российской популяции [5] частота выявления реакций на йодсодержащие препараты была схожей и составила 2%. При этом, согласно данным А.В. Матвеева и соавт. [6], йРКВ вошли в пятерку фармакологических препаратов, вызвавших анафилактический шок при использовании.

В литературе продолжают дискуссии о том, какова природа реакции гиперчувствительности на йРКВ.

В настоящее время превалирует мнение [7], что многие побочные реакции на йРКВ являются аллергическими, и могут протекать в виде разной степени анафилаксии либо отсроченных кожных реакций. Основными клиническими проявлениями неблагоприятных реакций на йРКВ, согласно данным А.В. Матвеева и соавт. [6], были реакции гиперчувствительности немедленного типа.

Согласно практическому руководству Американской академии аллергии [8] объективными симптомами анафилактической реакции являются крапивница, ангионевротический отек, бронхоспазм, выраженное падение давления и шок. Реакции гиперчувствительности замедленного типа на йРКВ обычно проявляются в виде макулопапулезных экзантем, реже в виде фиксированной лекарственной сыпи, острого генерализованного экзантематозного пустулеза, лекарственной эозинофилии, синдрома Стивенса-Джонсона (токсический эпидермальный некролиз), васкулита и йододермии [9].

Многим пациентам требуется неоднократное введение йРКВ, например, для мониторинга терапии либо при повторных оперативных вмешательствах. Следовательно, необходимо подтвердить или опровергнуть наличие сенсibilизации к конкретному препарату, а также подобрать безопасное йРКВ. Для диагностики аллергических реакций на лекарственные препараты в Российской Федерации рекомендованы [10] кожные тесты, провокационное тестирование, оценка уровня специфических иммуноглобулинов E, активации базофилов и некоторые другие. Согласно К. Вросков и соавт. [11], положительные кожные пробы на йРКВ были не более, чем у половины пациентов с документированными реакциями *in vivo*. Провокационное тестирование редко используется и в России, и в мире из-за высокого риска

развития анафилактических реакций [12] при проведении тестирования. Диагностика аллергии на йРКВ с помощью определения специфических иммуноглобулинов Е к основному действующему веществу затруднительна ввиду того, что лекарственная аллергия не всегда протекает по IgE-зависимому 1 типу реакций гиперчувствительности [13], а также коммерческие наборы в России не зарегистрированы.

Таким образом, сохраняется необходимость поиска новых методов диагностики сенсibilизации к йРКВ. По немногочисленным литературным данным [14, 15] тест активации базофилов, предложенный в последние годы 20-го века, показал свою эффективность как для подтверждения гиперчувствительности к йРКВ, так и для подбора оптимального препарата для повторного использования после подтвержденных реакций на йРКВ. При этом в литературе высказывается мнение [16], что ввиду редкости IgE-зависимых реакций на йРКВ данный тест не может с высокой точностью предсказывать риск развития неблагоприятной реакции на введение препаратов данной группы.

Целью нашей работы было оценить возможности теста активации базофилов методом проточной цитометрии для подтверждения сенсibilизации к неионным йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам, а также для выбора безопасного йРКВ у пациентов с отягощенным анамнезом.

Материал и методы. В исследование были включены 184 пациента ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России (52 мужчины и 132 женщины, от 29 до 81 года, $62,9 \pm 12,6$) и 32 волонтера (12 мужчин и 20 женщин, от 24 до 76 лет, $56,3 \pm 14,6$). Все пациенты были разделены на 4 группы по анамнестическим данным. 1-я группа – 79 человек с местной реакцией на раствор йода или биологически активные добавки с йодом. У этих пациентов была диагностирована, в основном, легкая степень тяжести реакций (в 95% случаев) с симптомами зуда, покраснения, ожога кожи, локализованными уртикарными высыпаниями [17]. 2-я группа – 59 человек с системными реакциями на введение йРКВ (омнипак, ультравист, оптирей, йонамиро, урографин). У этих пациентов была диагностирована, в основном, средняя степень тяжести реакций (в 76% случаев) с симптомами зуда, распухания тканей, генерализованной крапивницей, отеками, в том числе гортани, бронхоспазмом [17]. У 8 пациентов (3-я группа) реакция на йРКВ была расценена как токсическая с выраженной слабостью, рвотой, тошнотой, в 1 случае было нарушение ритма во время операции на сердце, у 1 пациента была токсикодермия. Срок давности возникновения реакций на йодсодержащие препараты составил от 2 нед до 40 лет. 38 пациентов, составивших 4-ю группу, предъявляли жалобы на разнообразные симптомы гиперчувствительности при приеме лекарственных средств, не содержащих йод. Все пациенты проходили обследование в связи с предстоящим проведением исследований с использованием йРКВ.

Волонтеры не имели реакций гиперчувствительности в анамнезе, онкологических заболеваний, в момент исследования отсутствовали острые и не было обострения хронических заболеваний.

Тест активации базофилов проводили методом проточной цитометрии (FC500, Beckman Coulter) с использованием набора Allergenicity kit (Cellular Analysis of Allergy, BECKMAN-COULTER) согласно инструкции производителя. Постановку теста осуществляли в течение

не более 2 ч от момента забора крови в вакутейнеры с гепарином лития. Идентификацию базофилов осуществляли в многоцветном протоколе (см. рисунок) с использованием коктейля моноклональных антител CD3/CD294(CRTH2)/CD203c, а их активацию оценивали на основании возрастания экспрессии CD203c после стимуляции *in vitro*. Исследовали 500 базофилов.

Для каждого пациента в тесте оценивали несколько параметров. Во-первых, спонтанную активацию базофилов в пробе с буферным раствором, а именно долю клеток с высокой экспрессией CD203c от общего количества базофилов SSlowCD3-CD294⁺CD203c⁺. Во-вторых, для контроля способности базофилов к активации использовали стимуляцию клеток анти-IgE антителами с определением доли клеток с высокой экспрессией CD203c (положительный контроль).

В-третьих, оценивали индекс активации базофилов на йРКВ – отношение количества активированных базофилов SSlowCD3-CD294⁺CD203c⁺⁺ в пробе с препаратом к данному параметру в пробе с буферным раствором. В качестве стимулов в тесте использовали 3 неионных йодсодержащих рентгеноконтрастных препарата – ультравист 300 (163 исследования, действующее вещество йопромид), омнипак 300 (112 исследований, действующее вещество йогексол), оптирей 300 (94 исследования, действующее вещество йоверсол). У 43 пациентов в тесте активации базофилов были исследованы одновременно 2 препарата, а у 19 – все 3. Тест на йРКВ считали положительным при индексе активации базофилов более 1,05. В-четвертых, измеряли относительное количество T-лимфоцитов 2-го типа иммунного ответа FSlowSSlowCD3⁺CD294⁺ от общего пула лимфоцитов FSlowSSlow.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ «Microsoft Office Excel 2016», пакета Statistica 12.0 («StatSoft», США). Данные представлены в виде средних значений (M) с расчетом ошибки среднего (m). Сравнение выборок с определением достоверности различий проводили с использованием t-критерия Стьюдента при нормальном распределении, а также с использованием критерия Манна-Уитни при отклонении распределения от нормального. При проведении частотного анализа использовали точный критерий Фишера (φ). Для оценки тесноты связи между признаками использовали непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Теснота связи рассчитывалась по коэффициенту корреляции Rs. Оценивали силу связи между признаками, $R_s \leq 0,3$ – показатель слабой тесноты связи; $R_s \geq 0,4 < 0,7$ – показатель умеренной тесноты связи; $R_s \geq 0,7$ – показатель высокой тесноты связи. Учитывались лишь связи с силой $R_s \geq 0,6$. Чувствительность и специфичность метода оценивали по стандартной методике ROC-анализа. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Оценка сенсibilизации *in vitro* на неионные йодсодержащие рентгеноконтрастные препараты. В группе волонтеров не было отмечено активации базофилов на йРКВ *in vitro*. У обследованных пациентов частота выявления сенсibilизация в тесте активации базофилов как минимум к 1 препарату составила 21%. Достаточно часто у пациентов была выявлена сенсibilизация к одному из препаратов при отсутствии реакции на альтернативное контрастное вещество. Частота выявления сенсibilизации на изученные препа-

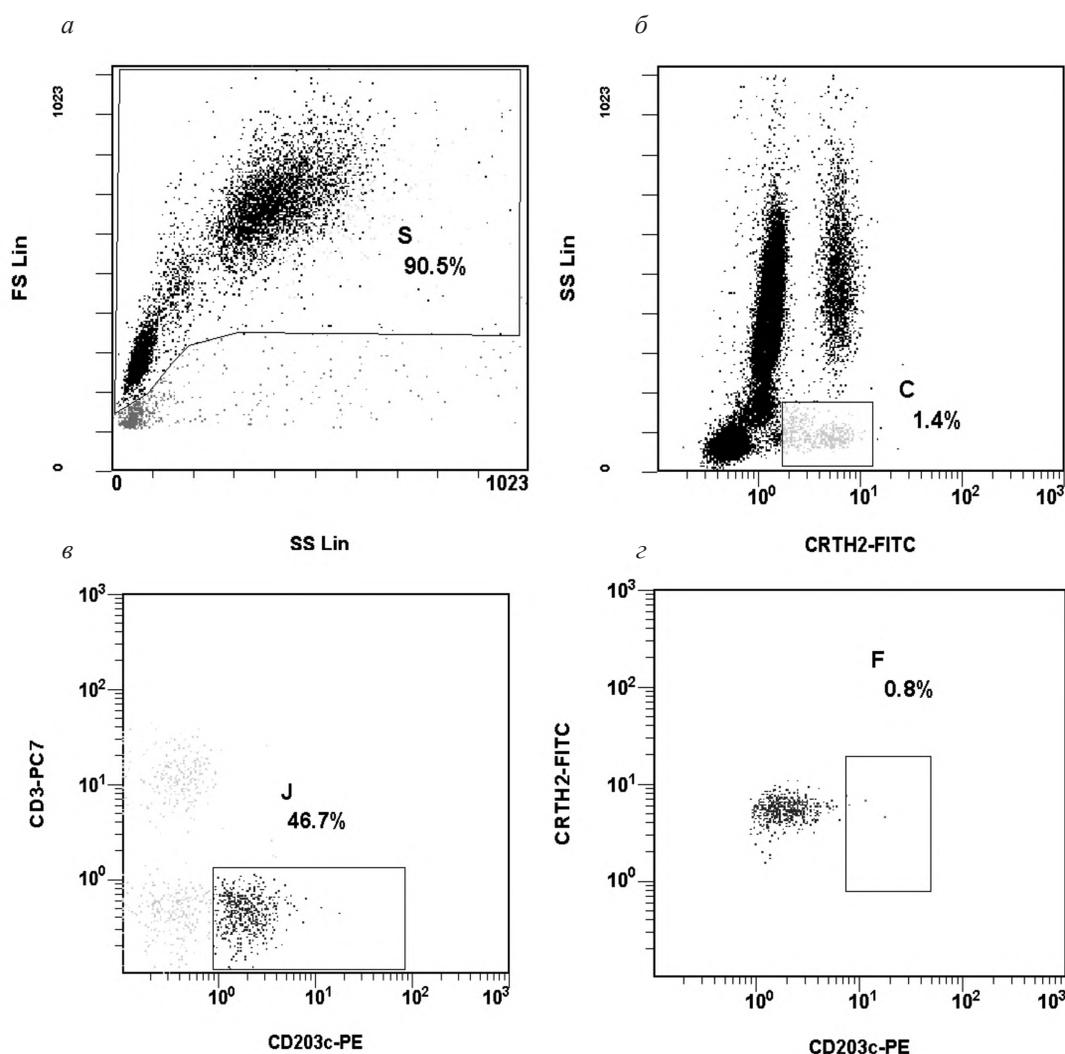
раты была схожей – 12% (19 из 163) на ультравист, 13% (15 из 112) на омнипак и 14% (13 из 94) на оптирей.

В исследовании выявлены значимые различия частоты сенсibilизация *in vitro* как минимум к одному йРКВ в группах пациентов, выделенных на основании интегральных анамнестических данных (табл. 1).

У пациентов с местными реакциями гиперчувствительности на йодсодержащие препараты в анамнезе частота выявления сенсibilизации в тесте *in vitro* на йРКВ была в два раза ниже, чем в группе больных с системными реакциями на введение рентгеноконтрастного вещества (см. табл.1). У волонтеров и пациентов с токсическими реакциями на введение йРКВ тест активации базофилов всегда был отрицательным. У пациентов с лекарственной гиперчувствительностью без указания на клинические симптомы при приеме йРКВ сенсibilизация *in vitro* на препараты встречалась крайне редко, что значимо отличалось от показателей 1-й и 2-й обследованных групп.

Была исследована частота выявления сенсibilизация *in vitro* к йРКВ у пациентов в зависимости от степени тяжести реакции *in vivo* при использовании йодсодержащих препаратов. Легкая степень реакции была определена у 89 человек, средняя – у 49. У пациентов со средней степенью реакции *in vivo* сенсibilизация *in vitro* к йРКВ выявлена в 4 раза чаще, чем при легкой степени (51% по сравнению с 13,5% соответственно, $p < 0,01$ $\phi^*_{эмп} = 4,71$ по критерию Фишера). Аналогично предыдущим данным, разница в частотах встречаемости сенсibilизации к различным йРКВ отсутствовала и в группах, разделенных на основании тяжести реакции *in vivo*.

Следует отметить, что у пациентов со средней степенью реакций в анамнезе на препараты, содержащие йод, наблюдалась тенденция к наличию сенсibilизации *in vitro* одновременно к нескольким йРКВ по сравнению с группой пациентов с легкой степенью (8,1% и 2,2% соответственно, $p = 0,06$).



Алгоритм поэтапного гейтирования популяции активированных базофилов.

a – гейт S. Отсечение дребриса по параметрам прямого FS и бокового SS светорассеяния; *б* – гейт C. Выделение области исследования, где находятся клетки, позитивные по CD294 (CRTH2) с низкими/средними показателями бокового SS светорассеяния для отсека эозинофилов и CD294⁺ клеток; *в* – гейт J. Определение популяции базофилов на основании экспрессии CD203c для отсека провоспалительных моноцитов и Т-лимфоцитов 2 типа, экспрессирующих CD294; *г* – гейт F. Определение популяции активированных базофилов с фенотипом SS^{low}CD3⁺CD294⁺CD203c⁺⁺, гиперэкспрессирующих молекулу CD203c, от общего числа базофилов SS^{low}CD3⁺CD294⁺CD203c⁺.

Среди 59 пациентов с системными реакциями гиперчувствительности на йРКВ у 21 индивидуума был известен и исследован в тесте активации базофилов йодсодержащий рентгеноконтрастный препарат, при введении которого они испытали симптомы средней тяжести реакции. У оставшихся 37 человек реакция *in vivo* была на урографин (20 человек), либо они не знали, какой именно препарат им вводили для визуализации, либо знали, но не планировали подтверждать сенсibilизацию лабораторно и выбирали другое (другие) йРКВ для подбора препарата с целью последующего его применения.

У 18 из 21 пациентов (86%) в тесте *in vitro* была подтверждена сенсibilизация к известному йРКВ. Время между аллергической реакцией и проведением тестирования составило от 2 недель до 2 лет.

После осуществления предварительного тестирования препаратов *in vitro* у 184 пациентов, 124 обследуемым были проведены вмешательства с использованием йРКВ, на которые не было выявлено сенсibilизации. 60 человек либо отказались от проведения исследований с контрастированием ($n=12$) либо на данный момент находятся в листе ожидания ($n=48$).

Среди 124 пациентов, согласно катamnестическим данным, не было выявлено тяжелых и средней тяжести реакций гиперчувствительности на введение рекомендованных йРКВ после тестирования *in vitro*. У 3 человек (2%) с системными проявлениями гиперчувствительности в анамнезе отмечены неблагоприятные реакции (отек мягких тканей лица и крапивница легкой степени) при введении рентгеноконтрастных препаратов, к которым не было выявлено сенсibilизации в тесте активации базофилов.

В нашем исследовании специфичность теста активации базофилов с рентгеноконтрастными веществами составила 100% при чувствительности 94,1%.

Оценка спонтанной и индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов и Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа. Спонтанная активация базофилов в группе волонтеров была значимо ниже, чем у обследованных пациентов ($1,5 \pm 0,1\%$ против $2,7 \pm 0,1\%$, $p < 0,01$). Полученное на основании ROC-анализа пороговое значение для разделения групп волонтеров и пациентов – 2,3% – обладало низкой чувствительностью в 50% при специфичности 93,7%.

Средние значения индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов у пациентов и волонтеров значимо не различались ($55,9 \pm 1,9\%$ и $64,3 \pm 3,4\%$). При проведении частотного анализа выявлено, что у пациентов чаще наблюдались низкие значения этого

показателя. Так, у обследованных больных в 37 случаях из 184 (20,1%) количество активированных анти-IgE антителами базофилов было ниже 30%, в то время как в группе сравнения таких было 2 человека из 32 (6,3%) ($p < 0,05$ $\phi^*_{эмп} = 2,21$ по критерию Фишера). Полученное на основании ROC-анализа пороговое значение для разделения групп волонтеров и пациентов – 36,8% – обладало низкой чувствительностью в 27,2% при специфичности 93,7%.

При анализе данных выявлено, что относительное количество Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа было в 2 раза выше в группе пациентов по сравнению с группой сравнения ($1,9 \pm 0,1$ и $0,9 \pm 0,1$, $p < 0,01$). Полученное на основании ROC-анализа пороговое значение для разделения групп волонтеров и пациентов – 1,5% – обладало низкой чувствительностью в 50,5% при специфичности 100%.

В различных группах пациентов, выделенных на основании анамнестических данных, значимых различий спонтанной и индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов, а также количества Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа, не выявлено (табл. 2), наиболее близкие к группе сравнения значения показателей наблюдались в группе обследованных лиц с токсическими реакциями на введение йРКВ.

Обсуждение. При необходимости визуализации с применением йРКВ пациентов опрашивают о наличии в анамнезе неблагоприятных реакций на йодсодержащие препараты. В случае указания на отягощенный анамнез повышается риск развития реакций гиперчувствительности на введение йРКВ, но он не носит абсолютный характер. Для минимизирования рисков неблагоприятных реакций предложено проведение теста активации базофилов с планируемым к применению йодсодержащим рентгеноконтрастным препаратом накануне проведения исследования.

Использование теста активации базофилов для определения сенсibilизации к йРКВ обоснованно из-за участия базофилов в развитии реакций гиперчувствительности [18]. Помимо IgE-опосредованных реакций, неспецифическое связывание йРКВ с рецепторами на тучных клетках и базофилах может приводить к дегрануляции клеток и прямому высвобождению гистамина. При не прямой активации возможно задействование компонентов системы комплемента и кининового каскада, поскольку описаны рецепторы на базофилах к компонентам комплемента [19, 20].

Изучив карты-извещения о нежелательных реакциях на йРКВ за 2009-2018 гг. в Республике Крым, А.В. Мат-

Таблица 1

Частота выявления сенсibilизация *in vitro* к йРКВ в различных группах обследованных

Группы обследованных	Частота выявления сенсibilизации к йРКВ n (%)
1-я группа, пациенты с местными реакциями гиперчувствительности на йодсодержащие препараты, $n=79$	18 (22,7) *, **
2-я группа, пациенты с системными реакциями гиперчувствительности на йРКВ, $n=59$	26 (44,0) *, ***
3-я группа, пациенты с токсическими реакциями на йРКВ, $n=8$	2 (5,2) **, ***
4-я группа, пациенты с симптомами лекарственной гиперчувствительности, $n=38$	0
5-я группа, волонтеры, $n=32$	0

Примечание. * - $p < 0,01$ $\phi^*_{эмп} = 2,66$ (критерий Фишера) между 1 и 2-й группами; ** - $p < 0,01$ $\phi^*_{эмп} = 2,69$ (критерий Фишера) между 1 и 3-й группой; *** - $p < 0,01$ $\phi^*_{эмп} = 4,75$ (критерий Фишера) между 2 и 3-й группами.

веев и соавт. [6] выявили, что подавляющее большинство пациентов с реакциями гиперчувствительности на йРКВ (82,6%) не имели отягощенного анамнеза, только у 13% были зарегистрированы проявления лекарственной аллергии. В то же время S.Y.Lee и соавт. [21] указывают на важность анамнестических данных – основным фактором риска развития реакций на йРКВ является отмечавшаяся ранее реакция на введение йодсодержащих рентгеноконтрастных препаратов. Дополнительно повышение риска наблюдается у пациентов с сахарным диабетом, хронической крапивницей и лекарственной гиперчувствительностью [22]. Наши данные согласуются с результатами коллег: частота выявления сенсибилизации *in vitro* к йРКВ выше у пациентов с гиперчувствительностью к йодсодержащим препаратам, особенно йРКВ, по сравнению не только с волонтерами, но и пациентами с симптомами лекарственной гиперчувствительности к другим группам фармакологических препаратов. В дополнение мы выявили, что частота встречаемости сенсибилизации к йРКВ у пациентов с системными реакциями на введение препарата, а особенно с более тяжелыми реакциями при применении данной группы веществ, значимо выше, чем у обследуемых с местными реакциями на йодсодержащие препараты и биодобавки и легкой степенью тяжести реакции гиперчувствительности на введение йРКВ. В нашем исследовании не было выявлено превалирования частоты встречаемости сенсибилизации *in vitro* ни к одному из тестируемых препаратов. У пациентов со средней тяжестью реакций *in vivo* наблюдалась тенденция к наличию сенсибилизации к нескольким йРКВ, при этом у большинства обследованных лиц была возможность подобрать йРКВ, не вызывающее сенсибилизацию. 2 случая подбора альтернативного контрастного вещества пациентам с неблагоприятными реакциями на йРКВ с помощью теста активации базофилов были описаны J.Vogtas и соавт. [23]. Таким образом, наличие в анамнезе неблагоприятных реакций на йодсодержащие препараты не запрещает использование в случае необходимости йРКВ при условии проведения адекватной диагностики.

При лабораторном подтверждении реакции гиперчувствительности к известному йРКВ в работе P.Pinnobrhun и соавт. [14] специфичность теста активации базофилов составила 88,4-100% при невысокой чувствительности 46-61,5%. В работе M. Salas и соавт. [15] чувствительность составила 62,5% при 100% специфич-

ности. В нашем исследовании мы подтвердили в тесте активации базофилов наличие гиперчувствительности к конкретному препарату в 86% случаев. Неполное совпадение лабораторных данных с анамнезом может быть связано с длительным временем между реакцией *in vivo* и проведением тестирования, другим механизмом развития реакции гиперчувствительности, а также с тем, что реакция могла быть на другие препараты, использованные при проведении, например, оперативного вмешательства при аортокоронарном шунтировании.

Значительно выше 94,1% в нашем исследовании была определена чувствительность теста активации базофилов для прогнозирования риска развития реакций гиперчувствительности на планируемый к применению йРКВ. Ни у одного пациента не было выявлено тяжелых и средней тяжести реакций гиперчувствительности на подобранный йРКВ, 2% (3 человека) обследованных пациентов предъявили жалобы на легкие отсроченные реакции при применении йРКВ, не вызвавших активации базофилов *in vitro*.

Помимо выявления в тесте активации базофилов сенсибилизации к конкретному препарату дополнительно оценивались спонтанная и индуцированная анти-IgE антителами активация базофилов, а также количество Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа. Оценка данных параметров при использовании теста для выявления сенсибилизации будет способствовать комплексной диагностике состояния пациента и определению типа превалирующего иммунного ответа.

Согласно нашим данным в группе пациентов спонтанная активация базофилов была значимо выше, чем у волонтеров, что свидетельствует о постоянно протекающем, но не всегда клинически выраженном, аллергическом воспалении у лиц с отягощенным анамнезом.

Базофилы волонтеров всегда активно отвечают на неспецифический стимул, запускающий IgE-опосредованную реакцию дегрануляции. У 20% пациентов в тесте *in vitro* количество активированных базофилов в ответ на анти-IgE антитела было меньше 30%, что крайне редко наблюдалось среди здоровых лиц. При этом у 15% пациентов значение этого параметра было ниже 25%, ни у одного волонтера таких низких цифр выявлено не было. Известно, что снижение активации клеток на стимул, вплоть до ее полного отсутствия, может быть обусловлено проведением исследования в рефрактерный период в случае гиперактивации базофилов

Таблица 2

Спонтанная и индуцированная анти-IgE антителами активация базофилов, популяция Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа в различных группах пациентов (M±m)

Группы пациентов	Спонтанная активация базофилов, %	Индукцированная анти-IgE антителами активация базофилов, %	Относительное количество Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа, %
1-я группа, пациенты с местными реакциями гиперчувствительности на йодсодержащие препараты, n=79	2,8±0,2	57,0±3,1	2,0±0,2
2-я группа, пациенты с системными реакциями гиперчувствительности на йРКВ, n=59	3,0±0,3	55,7±3,0	1,9±0,2
3-я группа, пациенты с токсическими реакциями на йРКВ, n=8	2,4±0,3	52,4±5,1	2,0±0,2
4-я группа, пациенты с симптомами лекарственной гиперчувствительности, n=38	1,9±0,5	64,8±6,5	2,1±0,5

in vivo, снижением реактивности клеток на фоне приема глюкокортикостероидов или других препаратов, обладающим супрессивным действием [24], индивидуальными особенностями нарушения проведения сигнала от комплекса FcεRI-IgE с участием тирозинкиназы Syk [25], модулированием активности эффекторных клеток через ингибиторный рецептор CD300a [26], а также другими неизвестными на данный момент факторами. В случае активации базофилов анти-IgE антителами менее, чем на 10% по сравнению со спонтанной активацией, невозможна корректная интерпретация отрицательных результатов в тесте с аллергеном [27]. Выраженное снижение активации базофилов на анти-IgE антитела, даже при отсутствии выявленной специфической сенсибилизации к йРКВ, должно рассматриваться аллергологом-иммунологом как отягчающий фактор при наблюдении и лечении пациента.

В нашем исследовании в периферической крови всех групп пациентов выявлено значительное повышение Т-клеток с фенотипом CD3⁺CD294⁺. Ранее увеличение этой популяции клеток было описано при рассеянном склерозе, спонтанной крапивнице [28], атопическом дерматите и эозинофильно-воспалительных заболеваниях кишечника [29]. Эти клетки имеют фенотип антиген-активированных Т-лимфоцитов эффекторных/памяти CD45RA⁺CD45RO⁺CD25⁺ [30] и характеризуются определенным профилем внутриклеточных цитокинов (синтез IL4, IL5, IL13 и отсутствие синтеза IFNγ) [31]. Интерлейкин 4 направляет иммунный ответ в сторону 2 типа с участием активатора транскрипции STAT6 [32]. Показано, что Т-лимфоциты, экспрессирующие CD294, могут быть как Т-хелперами, так и Т-цитотоксическими, продуцирующими интерлейкин 4 [33]. Они индуцируют синтез IgE плазмочитами [28,32], а также влияют на рост и дифференцировку тучных клеток, базофилов и эозинофилов.

Высокий уровень Т-лимфоцитов с экспрессией CD294 у пациентов свидетельствует о поляризации иммунного ответа в сторону 2 типа. Ранее гуморальный тип ответа в противовес клеточному 1 типу рассматривался как защитный при гельминтозах, а также был характерен при индукции аллергического воспаления. Согласно современной точке зрения [34], дополнительно в сферу компетенции 2 типа иммунного ответа входит контроль хронических воспалительных заболеваний, метаболического гомеостаза, репарации и фиброзированной ткани и др.

Недостаточная для разделения обследованных групп чувствительность пороговых значений спонтанной и индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов, а также относительного количества Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа, свидетельствует о значительной гетерогенности значений этих показателей у пациентов. Данный факт требует индивидуального подхода к интерпретации данных каждого обследуемого ввиду множества факторов, которые могут влиять на изменение этих показателей. Определяющими могут быть индивидуальные особенности организма пациента, наличие недавней анафилактической реакции и проведенная терапия.

Заключение. Проведенное исследование показало высокую чувствительность и специфичность теста активации базофилов как для подтверждения имевшейся в анамнезе гиперчувствительности к йодсодержащим рентгеноконтрастным препаратам, так и для подбора

альтернативного контрастного вещества в случае отягченного анамнеза. Не было выявлено превалирования частоты встречаемости сенсибилизации *in vitro* ни к одному из тестированных препаратов, реакция гиперчувствительности определяется индивидуальными особенностями организма пациента.

Включение в алгоритм обследования дополнительных параметров для комплексной оценки состояния пациента, а именно спонтанной и индуцированной анти-IgE антителами активации базофилов и популяции Т-лимфоцитов 2 типа иммунного ответа, позволит врачу осуществлять персонализированный подход к ведению пациентов с отягченным реакциями гиперчувствительности анамнезом. Выявление выраженных отклонений показателей от средних значений здоровой популяции будет влиять на тактику ведения пациента.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-4, 7-9, 11-16, 19-27, 29-32, 34 см. REFERENCES)

1. Шавкатов М.З., Назаренко В.А. Анализ распространенности лекарственной аллергии у пациентов хирургического стационара. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2019; 9 (1): 540. (ISSN 2224-6150).
2. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А. Изучение безопасности рентгеноконтрастных соединений на основании карт-извещений о нежелательных реакциях, зарегистрированных в Республике Крым. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2020; 101(6): 344-53. <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-6-344-353>.
3. Хаитов Р.М., Ильина Н.И., ред. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению лекарственной аллергии. В кн.: *Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019; 190-213.
4. Хлудова Л.Г. Реакции гиперчувствительности на контрастные средства. *Астма и аллергия*. 2019; 2: 8-11.
5. Бычкова Н.В. Активация базофилов: теоретические аспекты и применение в диагностике аллергических заболеваний. *Медицинская иммунология*. 2021; 23 (3): 481-94. doi: 10.15789/1563-0625-BAT-2174.
6. Бычкова Н.В., Синельникова Н.А., Чиненова Л.В., Калинина Н.М. CD3+CD294+ лимфоциты как маркеры Th2 и Tc2 иммунного ответа. *Медицинская иммунология*. 2017; 19(S): 239-40.
7. Бычкова Н.В., Чиненова Л.В., Калинина Н.М. Увеличение Т-цитотоксических 2 лимфоцитов с фенотипом CD3+CD8+CD294+ у пациентов с тяжелыми кожными проявлениями лекарственной аллергии. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11(4): 687-9.

REFERENCES

1. Trcka J., Schmidt C., Seitz C.S., Bröcker E.B., Gross G.E., Trautmann A. Anaphylaxis to iodinated contrast material: nonallergic hypersensitivity or IgE-mediated allergy? *AJR Am. J. Roentgenol*. 2008; 190(3):666-70. doi: 10.2214/AJR.07.2872.
2. Wolf G.L., Arenson R.L., Cross A.P. A prospective trial of ionic vs nonionic contrast agents in routine clinical practice: comparison of adverse effects. *AJR Am. J. Roentgenol*. 1989; May;152(5):939-44. doi: 10.2214/ajr.152.5.939.
3. Caro J.J., Trindade E., McGregor M. The risks of death and of severe nonfatal reactions with high- vs low-osmolality contrast media: a meta-analysis. *AJR Am. J. Roentgenol.* 1991;156(4):825-32. doi: 10.2214/ajr.156.4.1825900.
4. Kim M.H., Park C.H., Kim D.I., Kim K.M., Kim H.K., Lim K.H. et al. Surveillance of contrast-media-induced hypersensitivity reactions using signals from an electronic medical recording system. *Ann. Allergy Asthma Immunol*. 2012;108(3):167-71. doi: 10.1016/j.ana.2012.01.012.
5. Shavkatov M.Z., Nazarenko V.A. Analysis of the prevalence of drug allergy in surgical hospital patients. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2019; 9 (1): 540. (ISSN 2224-6150). (in Russian)

IMMUNOLOGY

6. Matveev A.V., Krashennnikov A.E., Egorova E.A.. Study of the safety of radio-opaque compounds based on cards-notifications of adverse reactions registered in the Republic of Crimea. *Vestnik rentgenologii i radiologii*. 2020; 101(6): 344–53. <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-6-344-353>. (in Russian)
7. Trautmann A., Brockow K., Behle V., Stoevesandt J. Radiocontrast Media Hypersensitivity: Skin Testing Differentiates Allergy From Nonallergic Reactions and Identifies a Safe Alternative as Proven by Intravenous Provocation. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*. 2019;7(7):2218-2224. doi: 10.1016/j.jaip.2019.04.005.
8. Joint Task Force on Practice Parameters; American Academy of Allergy, Asthma and Immunology; American College of Allergy, Asthma and Immunology; Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. The diagnosis and management of anaphylaxis: an updated practice parameter. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005;115 (3) (Suppl. 2): S483-523. doi: 10.1016/j.jaci.2005.01.010. Erratum in: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008 Jul;122(1):68.
9. Tasker F., Fleming H., McNeill G., Creamer D., Walsh S. Contrast media and cutaneous reactions. Part 2: Delayed hypersensitivity reactions to iodinated contrast media. *Clin. Exp. Dermatol.* 2019;44(8):844-860. doi: 10.1111/ced.13991.
10. Khaïtov R.M., Il'ina N.I., eds. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of drug allergy In: Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology [Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu lekarstvennoy allergii. V kn.: Klinicheskie rekomendatsii. Allergologiya i klinicheskaya immunologiya]. Moscow: GEOTAR-Media; 2019; 190-213. (in Russian)
11. Brockow K., Romano A., Aberer W., Bircher A.J., Barbaud A., Bonadonna P. et al European Network of Drug Allergy and the EAACI interest group on drug hypersensitivity. Skin testing in patients with hypersensitivity reactions to iodinated contrast media – a European multicenter study. *Allergy*. 2009;64(2):234-41. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01832.x.
12. Aberer W., Bircher A., Romano A., Blanca M., Campi P., Fernandez J. et al European Network for Drug Allergy (ENDA); EAACI interest group on drug hypersensitivity. Drug provocation testing in the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: general considerations. *Allergy*. 2003;58(9):854-63. doi: 10.1034/j.1398-9995.2003.00279.x.
13. Brockow K., Przybilla B., Aberer W., Bircher A.J., Brehler R., Dickel H. et al. Guideline for the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: S2K-Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI) and the German Dermatological Society (DDG) in collaboration with the Association of German Allergologists (AeDA), the German Society for Pediatric Allergology and Environmental Medicine (GPA), the German Contact Dermatitis Research Group (DKG), the Swiss Society for Allergy and Immunology (SGAI), the Austrian Society for Allergology and Immunology (ÖGAI), the German Academy of Allergology and Environmental Medicine (DAAU), the German Center for Documentation of Severe Skin Reactions and the German Federal Institute for Drugs and Medical Products (BfArM). *Allergo J. Int.* 2015;24(3):94-105. doi: 10.1007/s40629-015-0052-6.
14. Pinnobphun P., Buranapraditkun S., Kampitak T., Hirankarn N., Klaewsongkram J. The diagnostic value of basophil activation test in patients with an immediate hypersensitivity reaction to radiocontrast media. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2011;106(5):387-93. doi: 10.1016/j.anai.2010.12.020.
15. Salas M., Gomez F., Fernandez T.D., Doña I., Aranda A., Ariza A. et al. Diagnosis of immediate hypersensitivity reactions to radiocontrast media. *Allergy*. 2013;68(9):1203-6. doi: 10.1111/all.12214.
16. Chirumbolo S. Basophil activation test (BAT) in the diagnosis of immediate hypersensitivity reactions to radiocontrast media. *Allergy*. 2013;68(12):1627-8. doi: 10.1111/all.12323.
17. Khludova L.G. Hypersensitivity reactions to contrast media. *Astma i allergiya*. 2019; 2: 8-11. (in Russian)
18. Bychkova N.V. Basophil activation: theoretical aspects and application in the diagnosis of allergic diseases. *Meditinskaya immunologiya*. 2021; 23 (3): 481-94. doi: 10.15789/1563-0625-BAT-2174. (in Russian)
19. Decuyper I.I., Mangodt E.A., Van Gasse A.L., Claesen K., Uyttebroek A., Faber M. et al. In Vitro Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity Anno 2017: Potentials and Limitations. *Drugs R D*. 2017;17(2):265-278. doi: 10.1007/s40268-017-0176-x.
20. Mangodt E.A., Van Gasse A.L., Decuyper I., Uyttebroek A., Faber M.A., Sabato V. et al. In vitro Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity: Should We Go with the Flow. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2015;168(1):3-12. doi: 10.1159/000440663.
21. Lee S.Y., Kang D.Y., Kim J.Y., Yoon S.H., Choi Y.H., Lee W. et al. Incidence and Risk Factors of Immediate Hypersensitivity Reactions Associated With Low-Osmolar Iodinated Contrast Media: A Longitudinal Study Based on a Real-Time Monitoring System. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2019;29(6):444-450. doi: 10.18176/jiaci.0374.
22. Park H.J., Park J.W., Yang M.S., Kim M.Y., Kim S.H., Jang G.C. et al. Re-exposure to low osmolar iodinated contrast media in patients with prior moderate-to-severe hypersensitivity reactions: A multicentre retrospective cohort study. *Eur. Radiol.* 2017;27(7):2886-2893. doi: 10.1007/s00330-016-4682-y.
23. Borrás J., El-Qutob D., Lopez R., Enrique E.. Hypothesized Epitope Localization in Hypersensitivity Reactions to Iodinated Contrast Media. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2019;29(1):82-83. doi: 10.18176/jiaci.0341.
24. Sturm G.J., Kranzelbinder B., Sturm E.M., Heinemann A., Groselj-Strele A., Aberer W. The basophil activation test in the diagnosis of allergy: technical issues and critical factors. *Allergy*. 2009;64(9):1319-26. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02004.x.
25. Patil S.U., Shreffler W.G. Immunology in the Clinic Review Series; focus on allergies: basophils as biomarkers for assessing immune modulation. *Clin. Exp. Immunol.* 2012;167(1):59-66. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04503.x.
26. Zenarruzabeitia O., Vitallé J., Eguizabal C., Simhadri V.R., Borrego F. The Biology and Disease Relevance of CD300a, an Inhibitory Receptor for Phosphatidylserine and Phosphatidylethanolamine. *J. Immunol.* 2015;194(11):5053-60. doi: 10.4049/jimmunol.1500304.
27. Ebo D.G., Bridts C.H., Hagendorens M.M., Aerts N.E., De Clerck L.S., Stevens W.J. Basophil activation test by flow cytometry: present and future applications in allergology. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2008;74(4):201-10. doi: 10.1002/cyto.b.20419.
28. Bychkova N.V., Sinel'nikova N.A., Chinenova L.V., Kalinina N.M. CD3+CD294+ lymphocytes as markers of Th2 and Te2 immune response. *Meditinskaya immunologiya*. 2017; 19(S): 239-40. (in Russian)
29. Mitson-Salazar A., Prussin C. Pathogenic Effector Th2 Cells in Allergic Eosinophilic Inflammatory Disease. *Front Med. (Lausanne)*. 2017; 4:165. doi: 10.3389/fmed.2017.00165.
30. Nagata K., Tanaka K., Ogawa K., Kemmotsu K., Imai T., Yoshie O. et al. Selective expression of a novel surface molecule by human Th2 cells in vivo. *J. Immunol.* 1999;162(3):1278-86. PMID: 9973380. 2.
31. Nagata K., Hirai H., Tanaka K., Ogawa K., Aso T., Sugamura K. et al. CRTH2, an orphan receptor of T-helper-2-cells, is expressed on basophils and eosinophils and responds to mast cell-derived factor(s). *FEBS Lett.* 1999; 459(2):195-9. doi: 10.1016/s0014-5793(99)01251-x.
32. Haase P., Voehringer D. Regulation of the humoral type 2 immune response against allergens and helminths. *Eur. J. Immunol.* 2021; 51(2):273-9. doi: 10.1002/eji.202048864.
33. Bychkova N.V., Chinenova L.V., Kalinina N.M. Increase in T-cytotoxic 2 lymphocytes with CD3 + CD8 + CD294 + phenotype in patients with severe skin manifestations of drug allergy. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2017; 11(4): 687-9. (in Russian)
34. Gause W.C., Rothlin C., Loke P. Heterogeneity in the initiation, development and function of type 2 immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20(10):603-14. doi: 10.1038/s41577-020-0301-x.