



Overgevoeligheid ten opzichte van medicijnen en cannabis: diagnostische bijdrage van cellulaire tests

D.G. Ebo^{1,2}, C. Mertens^{1,2}, M. Van Houdt^{1,2}, V. Sabato^{1,2}, J. Elst^{1,2}

Onmiddellijke overgevoeligheidsreacties op geneesmiddelen vormen een belangrijk gezondheidsprobleem met ernstige gevolgen en financiële last van over- en verkeerde diagnose. De juiste diagnose kan echter een aanzienlijke uitdaging vormen, voornamelijk vanwege onbekenden in de mechanistische processen die de degranulatie van basofielen en/of mestcellen (MC) regelen en de onzekerheden die verband houden met de beschikbare in vitro en in vivo diagnostiek.

De laatste jaren is in toenemende mate gebleken dat onmiddellijke overgevoeligheidsreacties en anafylaxie ten opzichte van medicijnen niet per definitie een overbrugging van specifieke IgE antistoffen aanwezig op de membraan van mestcellen en basofielen vergt. [1] Activatie en degranulatie van deze effectorcellen kan ook geschieden via alternatieve processen waaronder binding met de mas-gerelateerde G proteïne gekoppelde receptor type X2 (MRGPRX2). Hierdoor, en mede door de beperkte beschikbaarheid van specifieke IgE antilichaam (sIgE) tests, start de diagnostiek van een onmiddellijke medicijnovergevoeligheid in de dagdagelijkse praktijk veelal met huidtests. Hoewel huidtests ongetwijfeld een diagnostische waarde hebben zijn zij niet absoluut betrouwbaar, bestaat er nog steeds onzekerheid betreffende de niet-irriterende concentraties en laten zij niet toe om het onderscheid te maken tussen een IgE-gemedieerde en MRGPRX2-gemedieerde reactie. Het is binnen de context van deze beperkingen dat de ontwikkeling en beschikbaarheid van veilige in vitro/ex vivo activeringstests van basofielen (BAT), mestcellen (MAT) en T-lymfocyten (LAT) anno 2023 een absolute meerwaarde biedt. [2-4] Enerzijds kunnen cellulaire tests bijdragen tot de correcte diagnose. Anderzijds laat een onderscheid tussen een IgE- en MRGPRX2-gemedieerde reactie toe om uitspraken te doen betreffende kruisreactiviteit en de mogelijkheid tot nieuwe toediening (desnoods via een desensibilisatie).

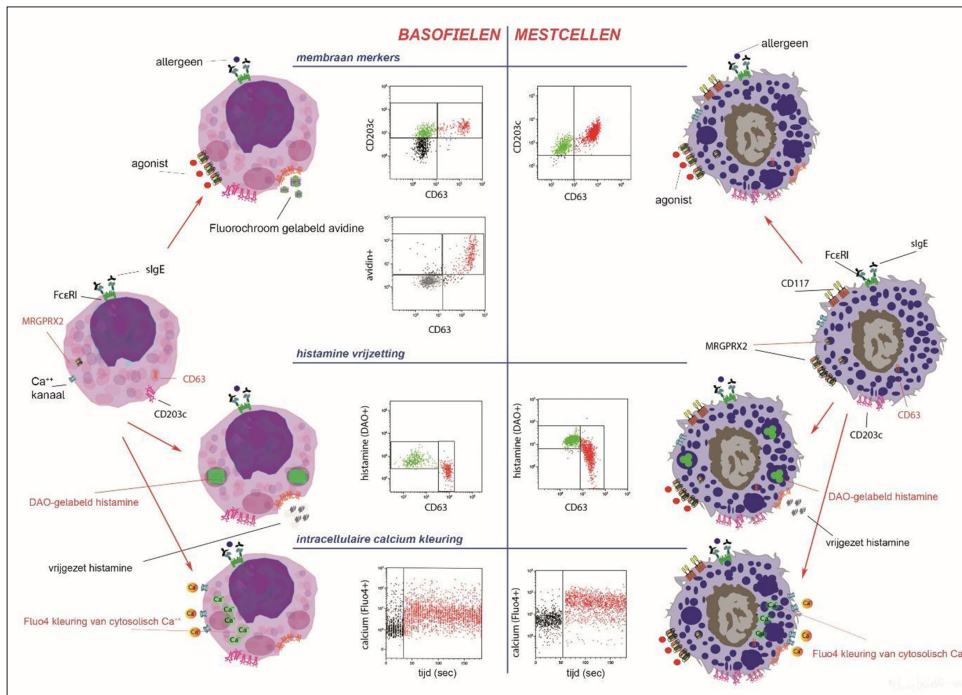
BASOFIENACTIVERINGSTEST (BAT)

Zoals al hoger aangegeven berusten de meeste, doch geenszins alle, overgevoeligheidsreacties ten opzichte van medicijnen en (illegale) drugs op een activatie en degranulatie van basofielen en/of mestcellen. Doordat circulerende basofielen gemakkelijker beschikbaar zijn dan residente weefsel mest-

cellen vormen zij een aantrekkelijk diagnostisch instrument. Initieel werd de degranulatie van basofielen vooral bestuurd aan de hand van vrijzetten van (vluchtige) mediators. Het is echter de ontwikkeling van performante multichromatische flow cytometers die de toepassing van de BAT in een stroomversnelling bracht. Voor een gedetailleerde beschrijving van de uitvoering en toepassingen van de BAT verwijs ik graag naar. [2,5] Kort, basofielen worden geïncubeerd met allergeen en vervolgens wordt hun activatie/degranulatie doorgaans gemeten aan de hand van specifieke oppervlakte membraanmarkers zoals CD63 en CD203c (zie figuur 1). Vandaag de dag of tegenwoordig wordt de BAT vooral toegepast in de diagnosestelling van overgevoeligheid ten opzichte van β -lactam antibiotica, curariserende spierverslappers, joodhoudende radiologische contrastmiddelen, chloorhexidine en opiaten. [2,4] De techniek verdient daarbij geenszins de plaats van primair diagnosticum, maar kan zeker helpen in complexe situaties waarbij huidtests en/of specifieke IgE bepalingen niet tot een zekerheidsdiagnose met correcte identificatie van de boosdoener(s) leiden. [4] Bovendien, doordat rustende basofielen, in tegenstelling tot mestcellen, nauwelijks MRGPRX2 op hun membraan vertonen [6] pleit een positief BAT resultaat voor een IgE-gemedieerde reactie. Vandaar dat de BAT een prominente rol speelt in het mechanistisch algoritme dat reeds ten dele elders voorgesteld werd. [2] Met betrekking tot allergie ten opzichte van *Cannabis sativa* (Can s) dient de verdienste van de BAT vandaag vooral gezocht te worden als veilig diagnosticum en de bijdrage in het bepalen van de effectorcellen-activerende capaciteit van verschillende componenten zoals Can s 2 (profiline), Can s 3 (niet-specifiek lipide transfer proteïne), Can s 4 (oxygen-evolving enhancer proteïn 2, OEEp2) en Can s 5 (een homoloog van het majeure berkenpollen allergeen). [7,8] Anderzijds heeft

¹ Faculty of Medicine and Health Sciences, Department of Immunology-Allergology- Rheumatology, University of Antwerp, Antwerp, Belgium

² Immunology, Allergology, Rheumatology, Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgium



Figuur 1. De activatie en degranulatie van basofielen en mestcellen kan flowcytometrisch op verschillende manieren aangetoond worden. 1) door de verhoogde expressie van oppervlakte membraan markeringen, 2) door de afname van intracellulaire mediators zoals histamine, 3) calciummobilisatie.

de BAT ook enkele belangrijke beperkingen. De BAT vergt een snelle analyse na de bloedafname en is niet bruikbaar bij ongeveer 10-15% van onze patiënten waarbij de basofielen niet responsief zijn.

MESTCELLENACTIVERINGSTESTS (MAT)

Aangestuurd door de hogervermelde beperkingen van de BAT werden heel wat initiatieven ondernomen om de cellulaire diagnostiek van onmiddellijke geneesmiddelenovergevoeligheid te optimaliseren. Recentelijk wordt daarbij vooral ingezet op de mestcellenactiveringstest (MAT). [3] In tegenstelling tot de BAT, maakt de MAT gebruik van patiëntensera om een specifieke mestcellijn of donor mestcellen te activeren. De techniek behoeft dus geen mestcellen van de patiënt maar laat toe om sera te verschepen naar een gecentraliseerd laboratorium dat batchanalyses kan uitvoeren en daardoor op een meer gestandaardiseerde manier kan werken dan een *ad hoc* basofielenactiveringsexperiment. Zoals aangegeven in figuur 1 worden bij de MAT doorgaans dezelfde activatie/degranulatie parameters gebruikt als bij de BAT. Toegegeven, vandaag staat de toepassing van de MAT binnen het domein van geneesmiddelenovergevoeligheid nog in haar kinderschoenen, maar in onze chloorhexidinstudies lijkt de techniek beloftevol. [9-11] Doordat mestcellen MRGPRX2 op hun membraan vertonen, en elk mestcelactivatie-experiment een setting kent waarbij de cellen niet passief gesensibiliseerd worden met patiëntenserum, laat de MAT ook toe om een MRGPRX2-activerend vermogen op het spoor te komen en te bestuderen. [11-13] Of de MAT ooit de BAT naar de kroon kan steken moet nog blijken. [14]

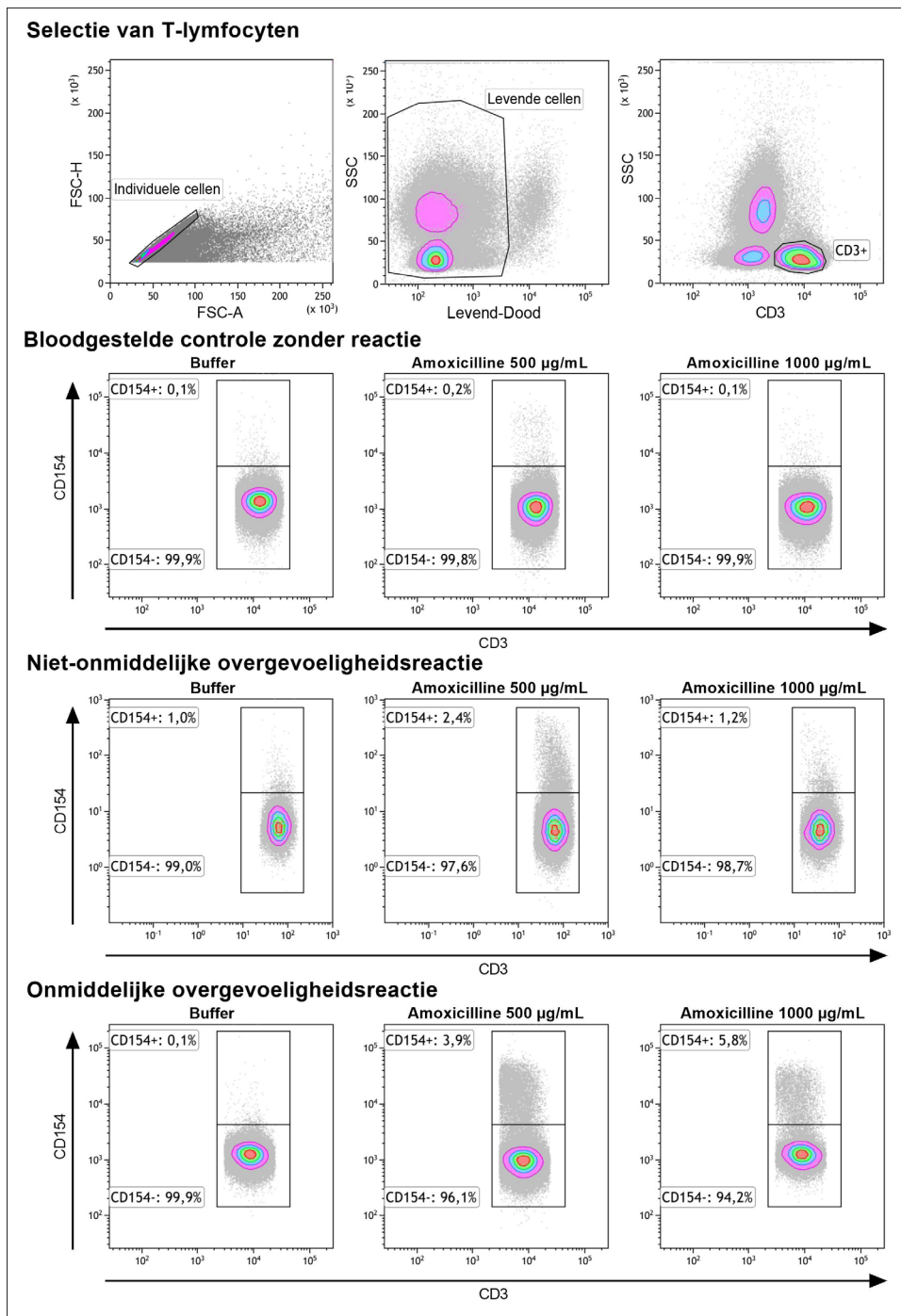
T-LYMFOCYTENACTIVERINGSTESTS (TAT)

De lymfocyten transformatie test (LTT) is genoegzaam bekend. Historisch werd vooral gebruik gemaakt van proliferatietes-

ten. Doch mede door de nood aan radio-isotopen en geringe gevoeligheid van deze methode is de klinische toepassing van proliferatietesten beperkt gebleven. Vandaag kan T-cel activatie ook gemeten worden via flowcytometrie. Kort, perifeer bloed mononucleaire cellen (PBMC) worden geïncubeerd met het allergeen. Daarna worden de T-lymfocyten geïdentificeerd aan de hand van aankleuren van CD3 en de activatiestatus van de cellen wordt gemeten met markeringen zoals CD154, interleukine-4 en interferon- γ die intracellulair aangekleurd worden. T-celactivering wordt al jaren toegepast binnen het domein van de niet-onmiddellijke overgevoeligheidsreacties ten opzichte van medicijnen. [15,16] Aangezien Th2-lymfocyten echter ook betrokken zijn in de IgE isotype switch, kan een T-cel test ook zinvol zijn bij onmiddellijke geneesmiddelenovergevoeligheid. Een positief resultaat gecombineerd met een kliniek van een onmiddellijke reactie is daarbij indicatief voor een sensibilisatie en maakt een MRGPRX2-gemedieerde reactie minder waarschijnlijk. Dit alles maakt dat de T-cel activeringstest (TAT), in tegenstelling tot de BAT en MAT, waarbij enkel naar de effectorcellen van de onmiddellijke reactie gekeken wordt, het potentieel heeft om een diagnosticum te worden voor zowel onmiddellijke als niet-onmiddellijke overgevoeligheidsreacties. Figuur 2 toont een voorbeeld betreffende amoxicilline. Toegegeven verder onderzoek is nodig om deze veronderstelling kracht bij te zetten.

SAMENVATTING EN PERSPECTIEVEN

De hoger beschreven testen hebben ongetwijfeld een diagnostische meerwaarde. Bovendien kunnen zij bijdragen in de verdere opheldering van mechanismen en identificatie van therapeutische doelen. Echter, alvorens zij kunnen doorbreken tot de routine diagnostiek moet er nog een aanzienlijke weg afgelegd worden. Uit de huidige ervaring blijkt dat de testprotocollen en resultaten medicijn-specifiek zijn en niet een-



Figuur 2. Illustratief voorbeeld van de T-cel activeringstest (TAT). In tegenstelling tot de T-lymfocyten van een gezonde controle die geen symptomen vertoonde tijdens en na een provocatietest met amoxicilline wordt er een duidelijke verhoging waargenomen van de activatiemerker CD154 (CD40L) bij patiënten met een gedocumenteerde niet-onmiddellijke en onmiddellijke overgevoelighedsreactie ten opzichte van dit antibioticum.

voudig vertaalbaar zijn voor een ander medicijn of medicijn-klasse. Er is dus nood aan een medicijn-specifieke ontwikkeling en validatie. De verklaring hiervoor dient gezocht in verschillende redenen (vb. pH, belang metabolieten, ...). Naast de inclusie van patiënten met uiteenlopende klinische presentatie (milde reacties versus levensbedreigende anafylaxie), zijn er verschillende variabelen zoals de pretest probaliteit (al dan niet gedocumenteerd), evolutie van sensibilisatie en het tijdsinterval tussen de index reactie en de tests (afname of niet). Dit wordt het best geïllustreerd door β -lactam antibiotica en curares. De meeste patiënten die zich aanbieden met

een mogelijke allergie ten opzichte van β -lactam antibiotica vertoonden ooit, jaren geleden, een 'huidruptie' die nauwelijks gedocumenteerd werd en waarbij verdere informatie ontbreekt. Geen details over welk antibioticum, interval inname en ontstaan klachten (tijdslijn), soort reactie en uiteindelijke verloop. Dat deze informatie essentieel is voor een correcte risico-analyse werd recentelijk nog in twee grote studies onderstreept. [17,18] De meeste patiënten die een perioperatieve anafylaxie doormaken worden doorgaans snel doorverwezen voor verdere tests en zijn in het bezit van notities van de anesthesist die getuige was van het acute gebeuren.

SAMENVATTING

Overgevoeligheid ten opzichte van medicijnen en (illegale) drugs vormen een significant gezondheidsprobleem met belangrijke consequenties bij een foute diagnose. Hoewel de (placebogecontroleerde) provocatietest door velen beschouwd wordt als de referentietest, ligt de uitvoering ervan niet altijd voor de hand. Provocaties zijn niet zonder gevaar, eisen een specifieke omkadering (inclusief ervaren personeel), zijn niet altijd mogelijk omwille van de farmacologische effecten van een therapeutische dosis of geven problemen door het illegaal karakter van het allergeen. Daarom wordt in de praktijk doorgaans gebruik gemaakt van andere diagnostica zoals een dosering van specifieke IgE antistoffen (sIgE), patchtests en huidtests met onmiddellijke en laattijdige aflezing voor respectievelijk onmiddellijke en laattijdige overgevoeligheidsreacties. Echter, geen van deze tests heeft een absoluut

voorspellende waarde. Dit artikel poogt een overzicht te schetsen van de mogelijkheden en beperkingen van drie cellulaire tests die hun intrede deden in de in vitro/ex vivo diagnose van onmiddellijke overgevoeligheidsreactie reacties ten opzichte van medicijnen en cannabis sativa. Doordat hierbij vaak uitgegaan wordt van onze eigen interesse en expertise worden sommige stellingen mogelijk (nog) niet universeel aanvaard.

TREFWOORDEN

Basofiel – flowcytometrie – geneesmiddelenovergevoeligheid – mestcel - T-lymfocyt

KEYWORDS

Basophil - flow cytometry - drug hypersensitivity - mast cell - T-lymphocyte

LITERATUUR

1. Ebo DG, Beyens M, Heremans K, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Mertens C, et al. Recent Knowledge and Insights on the Mechanisms of Immediate Hypersensitivity and Anaphylaxis: Ige/Fcεr1- and Non-Ige/Fcεr1-Dependent. *Curr Pharm Des.* 2022.
2. Ebo DG, Bridts CH, Mertens CH, Sabato V. Principles, potential, and limitations of ex vivo basophil activation by flow cytometry in allergology: A narrative review. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(4):1143-53.
3. Elst J, van der Poorten MM, Van Gasse AL, De Puyseleer L, Hagendorens MM, Faber MA, et al. Mast cell activation tests by flow cytometry: A new diagnostic asset? *Clin Exp Allergy.* 2021;51(11):1482-500.
4. Elst J, Sabato V, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Van Houdt M, Bridts CH, et al. Basophil and mast cell activation tests by flow cytometry in immediate drug hypersensitivity: Diagnosis and beyond. *J Immunol Methods.* 2021;495:113050.
5. Bridts CH, Sabato V, Mertens C, Hagendorens MM, De Clerck LS, Ebo DG. Flow cytometric allergy diagnosis: basophil activation techniques. *Methods Mol Biol.* 2020;2163:183-95.
6. Elst J, Sabato V, Hagendorens MM, van Houdt M, Faber MA, Bridts CH, et al. Measurement and functional analysis of the mas-related G protein-coupled receptor MRGPRX2 on human mast cells and basophils. *Methods Mol Biol.* 2020;2163:219-26.
7. Decuyper, II, Van Gasse AL, Faber MA, Elst J, Mertens C, Rihs HP, et al. Exploring the diagnosis and profile of cannabis allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019;7(3):983-9.e5.
8. Toscano A, Elst J, van der Poorten ML, Beyens M, Heremans K, Decuyper, II, et al. Establishing diagnostic strategies for cannabis allergy. *Expert Rev Clin Immunol.* 2022;18(10):1015-22.
9. Elst J, van der Poorten MM, Faber MA, Van Gasse AL, Garvey LH, Bridts CH, et al. Mast cell activation test in chlorhexidine allergy: a proof of concept. *Br J Anaesth.* 2020;125(6):970-5.
10. Elst J, Moonen N, van der Poorten MM, Faber MA, Van Gasse AL, Garvey LH, et al. The passively sensitized mast cell activation test is a reliable diagnostic for chlorhexidine allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(10):3826-8.e2.
11. Ebo DG, Elst J, Moonen N, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Garvey LH, et al. Mast cell activation test: A new asset in the investigation of the chlorhexidine cross-sensitization profile. *Clin Exp Allergy.* 2022;52(11):1311-20.
12. Elst J, Sabato V, Faber MA, Bridts CH, Mertens C, Van Houdt M, et al. MRGPRX2 and immediate drug hypersensitivity: Insights from cultured human mast cells. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2021;31(6):489-99.
13. Elst J, Maurer M, Sabato V, Faber MA, Bridts CH, Mertens C, et al. Novel insights on MRGPRX2-mediated hypersensitivity to neuromuscular blocking agents and fluoroquinolones. *Front Immunol.* 2021;12:668962.
14. Ebo DG, Heremans K, Beyens M, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Mertens C, et al. Flow-based allergen testing: Can mast cells beat basophils? *Clin Chim Acta.* 2022;532:64-71.
15. Fatangare A, Glässner A, Sachs B, Sickmann A. Future perspectives on in-vitro diagnosis of drug allergy by the lymphocyte transformation test. *J Immunol Methods.* 2021;495:113072.
16. Sachs B, Fatangare A, Sickmann A, Glässner A. Lymphocyte transformation test: History and current approaches. *J Immunol Methods.* 2021;493:113036.
17. Sabato V, Gaeta F, Valluzzi RL, Van Gasse A, Ebo DG, Romano A. Urticaria: The 1-1-1 criterion for optimized risk stratification in β-lactam allergy delabeling. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(10):3697-704.
18. Romano A, Valluzzi RL, Gaeta F, Caruso C, Zaffiro A, Quarantino D, et al. The combined use of chronological and morphological criteria in the evaluation of immediate penicillin reactions: evidence from a large study. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2022.

CORRESPONDING AUTHOR

Didier Ebo

E-mail: immuno@uantwerpen.be