

ДИАГНОСТИКА АЛЛЕРГИИ НА МЕСТНЫЕ АНЕСТЕТИКИ В РЕАКЦИИ АНТИГЕНИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ

КАРПУК И.Ю.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский
университет»;
кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом факультета
повышения квалификации и переподготовки кадров*

Резюме. В статье описана разработка и клиническая апробация реакции антигениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) для диагностики аллергии на местные анестетики.

Обследованы следующие группы пациентов: с достоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики (n=70); с лекарственной аллергией и недостоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики (n=63); пациенты аллергологического отделения с аллергической и неаллергической бронхиальной астмой, аллергическим ринитом, аллергическим дерматитом (n=46); контрольную группу составили 26 пациентов из отделений (хирургического и нейрохирургического) без аллергопатологии и без аллергии на местные анестетики.

Диагностическая эффективность РАПЛ для новокаина составила 86,8%, для лидокаина – 85,9%, для ультракаина – 92%, что говорит о возможности использования РАПЛ для диагностики аллергии к местным анестетикам. Такой подход диагностики аллергии на местные анестетики учитывает важные этапы развития аллергической реакции и является безопасным для пациента.

Ключевые слова: местные анестетики, лабораторная диагностика, лекарственная аллергия, лейкоциты.

Abstract. In the work is described the development and clinical approval of the response of antigeninduction injury of leucocytes (RADL) for diagnostics of an allergy to local anesthetics.

Next groups of patients were inspected: with true allergy by anamnesis on local anesthetics (n=70); with a medicinal allergy by anamnesis on local anesthetics (n=63); patients of the allergological department with allergological and not allergological bronchial asthma, allergic rhinitis, allergic dermatitis (n=46); the control group was consisted of 26 patients from the departments (surgical and neurosurgical) without allergic pathology and to local anesthetics.

A diagnostic effectiveness RADL for novocain made 86,8%, for lidocaine - 85,9%, for ultracaine - 92%. This speaks about a possibility of using RADL for diagnostics of an allergy on local anesthetics. This side of the diagnostics of an allergy on local anesthetics considers important stages of the development of allergic response and presents itself as a safe for a patient.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210027 г. Витебск, ул. Правды, д. 66, кв. 112. р.телефон: – 8-0212-22-53-80; моб. МТС 711-97-36, Карпук И. Ю.

Введение.

Результаты изучения заболеваемости и распространенности аллергических болезней в разных странах свидетельствуют о том, что в настоящее время их количество неуклонно растет [1-5]. Возникновение этих болезней может быть обусловлено многими факторами: ухудшением экологии, стрессами, употреблением медикаментов, пищевых добавок. Важную роль играет наследственность: если один из родителей страдает аллергией, то вероятность возникновения болезни у ребенка составляет 30-40%, если аллергии подвержены оба родителя, то повышенная чувствительность к определенным аллергенам может появиться у ребенка в 70% случаев [6-9].

Диагноз атопии правомочен при подтверждении аллергоанамнеза результатом провокационных проб [10-12]. Специфическое аллергологическое обследование, проводимое *in vitro*, является необходимым этапом при постановке диагноза «аллергия» [13-17]. Специальные лабораторные пробы, проводимые с клетками больного и аллергеном, по сути и являются провокационными пробами, которые можно применять без опасения развития побочных эффектов [10].

Среди компрометированных по аллергореакциям на местные анестетики (МА), повышается процент лиц с полиаллергической реакцией на местные анестетики. Полиаллергической считают такую реакцию на МА если у пациента выявлялась повышенная чувствительность организма к 3 и более МА [16, 18, 19].

В связи с этим необходимо иметь методы, задачей которых является выявление непереносимости анестетиков с целью отбора инертных препаратов для конкретного компрометированного или относящегося к группе риска пациента на основе наиболее эффективных методов исследования *in vitro* и *in vivo*. Методов лабораторной аллергодиагностики, выявляющих и учитывающих все типы реакций, практически нет в арсенале аллергологов и врачей-лаборантов. В связи с этим стоит важная задача разработки новых и совершенствования имеющихся методов аллергодиагностики, что и определяет актуальность настоящей работы.

Цель исследования – разработка и клиническая апробация реакции антигениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) для диагностики аллергии на местные анестетики.

Методы

Объектом исследования служили следующие группы пациентов:

- с достоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики n=70;
- с лекарственной аллергией и недостоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики n=63;

- пациенты аллергологического отделения с аллергической и неаллергической бронхиальной астмой, аллергическим ринитом, аллергическим дерматитом n=46;
- контрольную группу составили 26 пациентов из отделений (хирургического и нейрохирургического) без аллергопатологии.

Описание метода.

В реакции использованы 0,001% растворы местных анестетиков (аллергенов). Для каждого испытуемого антигена оптимальную дозу определяют в реакции с лейкоцитами пациентов без аллергии (не должно быть повреждения).

В качестве аллергенов были использованы препараты местных анестетиков в разведение для реакции 1:1000:

1. Новокаин (0,002% раствор) – производство Борисовского завода медицинских препаратов. Для исследований его использовали в разведении 1:1000 в физиологическом растворе хлорида натрия.

2. Лидокаина гидрохлорид (0,002% раствор) – производство Борисовского завода медицинских препаратов. Для исследований его использовали в разведении 1:1000 в физиологическом растворе хлорида натрия.

3. Ультракаин ДС (0,004% раствор) – 1 картридж 1,7 мл содержит: артикаина гидрохлорид 40 мг; эпинефрина гидрохлорид 0,006 мг; метабисульфит натрия 0,5 мг; натрия хлорид 1 мг; вода для инъекций 2 мл. Фирма-производитель: «Авентис Фарма Дойчланд ГмбХ», Франкфурт-на-Майне, Германия.

Для испытания антигенов (МА) брали из вены 10 мл крови в пробирку, в которую было добавлено 20ед/мл гепарина. Использовали суспензию неразделенных лейкоцитов, полученных из плазмы крови после её отстаивания 30-40 мин. Лейкоциты отмывали от плазмы раствором Хенкса, содержащим 0,1% человеческого или бычьего сывороточного альбумина, готовили их суспензию в концентрации 2×10^6 /мл. Далее 0,0025 – 0,05 мл суспензий лейкоцитов смешивали с равным объемом различных концентраций испытуемых и контрольных антигенов, к одной пробе (контроль) антиген не добавляли. Смеси лейкоцитов с местными анестетиками инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Все пробы дублировали. После инкубации смесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, надосадочную жидкость сливали, добавляли 2 капли 0,1% раствора трипанового синего, ресуспензировали и подсчитывали в камере Горяева процент живых неокрашенных и поврежденных – окрашенных лейкоцитов[20].

Цитотоксический индекс (ЦИ) равен:

$$\frac{a - b}{a} \times 100$$

где а – процент живых клеток в контроле после инкубации без антигена или с контрольным антигеном; б – то же, но в опыте с местным анестетиком.

Интерпретация результатов.

Индексы больше 15% поврежденных клеток в опыте по сравнению с контролем, указывали на наличие сенсibilизации полинуклеаров к местному анестетику[20].

Результаты и обсуждение

В результате обследования выборки группы пациентов (n=70) с достоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики методом РАПЛ были выделены группы с аллергией по анамнезу на новокаин (n=35), на лидокаин (n=31) и на ультракаин (n=24).

В группе пациентов с достоверно установленной аллергией на новокаин (n=35) 28 (80%) проб были положительными и 7 (20%) отрицательными по РАПЛ. (таблица 1).

Таблица 1

Результаты обследования методом РАПЛ пациентов с достоверной по анамнезу аллергией на местные анестетики.

Местные анестетики	Положительная РАПЛ абс(%)	Отрицательная РАПЛ абс(%)
новокаин (n=35)	28 (80%)	7 (20%)
лидокаин (n=31)	24 (74,2 %)	7(25,8%)
ультракаин (n=24)	22 (91,6 %)	2(8,4%)

Отмечены случаи аллергии по анамнезу и по РАПЛ на несколько местных анестетиков: по анамнезу на новокаин, лидокаин у семи пациентов, новокаин – ультракаин – у десяти; из них по РАПЛ наблюдались следующее: новокаин, лидокаин были положительными в пяти пациентов, новокаин, ультракаин – у одного, новокаин, скандонест – у одного, новокаин, лидокаин, ультракаин – у двух, новокаин, лидокаин, ультракаин, скандонест – у одного пациента.

В группе пациентов с достоверной по анамнезу аллергией на лидокаин при n=31, число положительных результатов РАПЛ составило 24 (72,4 %) , отрицательных 7 (25,8%) (таблица 1). При этом наблюдалось сочетание положительных реакций по анамнезу и РАПЛ на два и более различных анестетиков: 1. по анамнезу: лидокаин, новокаин – у шести пациентов, лидокаин, ультракаин – у пяти пациентов, лидокаин, новокаин, ультракаин – у одного; 2. по РАПЛ были выявлены следующие варианты положительных реакций: лидокаин, новокаин – у пяти пациентов, лидокаин, ультракаин – у трех пациентов.

Обследование выборки группы пациентов с достоверной по анамнезу аллергией на ультракаин n=24 методом РАПЛ было выявлено следующее: количество положительных результатов – 22 (93,1 %), отрицательных 2 (8,4%) (таблица 1). В этой группе также присутствовали случаи ди – и полиаллергии по анамнезу и по РАПЛ: 1. по анамнезу: ультракаин, новокаин – у шести пациентов, ультракаин, лидокаин – у пяти пациентов; 2. по РАПЛ было выявлено следующее: ультракаин, новокаин – у пяти пациентов, ультракаин, лидокаин - у одного пациента.

В контрольной группе (n=26) наблюдались следующие результаты: на новокаин выявлено положительных 1 (3,85%), отрицательных 25 (96,15%), на лидокаин – положительных 1 (3,85%), отрицательных 25 (96,15%), ультракаин – положительных 2 (7,7%), отрицательных 24 (92,3%) (таблица 2).

Таблица 2

Результаты обследования методом РАПЛ пациентов из хирургического и нейрохирургического отделений без аллергопатологии (n=26).

Местные анестетики	Положительная РАПЛ абс(%)	Отрицательная РАПЛ абс(%)
новокаин	1(3,85%)	25(96,15%)
лидокаин	1(3,85%)	25(96,15%)
ультракаин	2(7,7%)	24(92,3%)

Возможность использования предложенной реакции оценивали по следующим показателям: диагностическая чувствительность, специфичность, и диагностическая эффективность [20]. Для этого были отобраны группы пациентов с достоверно выявленной аллергией к МА (n=70) и группа пациентов из хирургического и нейрохирургического отделений без аллергопатологии (n=26). С лейкоцитами этих пациентов проводилась РАПЛ и подсчитывалось количество истинно положительных (ИП), истинно отрицательных (ИО), ложно положительных (ЛП), ложно отрицательных (ЛО) результатов представленных в таблице 3.

Таблица 3

Расчет диагностических коэффициентов для новокаина, лидокаина, ультракаина в обследуемых группах.

Группа пациентов с положительным анамнезом на:	ИП	ЛП	ИО	ЛО	ДС,%	ДЭ,%	ДЧ,%
новокаин (n=35)	28	1	25	7	96,2%	86,8%	80%
лидокаин (n=31)	24	1	25	7	96,2%	85,9%	74,2%
ультракаин (n=24)	22	2	24	2	92,3%	92%	91,6%

Диагностическую чувствительность теста (ДЧ) – способность теста выявить аллергию у больных – рассчитывали по формуле:

$$ДЧ = \frac{ИП}{ИП + ЛО} \times 100\%$$

Диагностическую специфичность теста (ДС) – способность теста давать отрицательные результаты у здоровых людей - рассчитывали по формуле:

$$ДС = \frac{ИО}{ИО + ЛП} \times 100\%$$

Диагностическую эффективность теста (ДЭ) – способность теста правильно отличать больных аллергией от здоровых – рассчитывали по формуле:

$$ДЭ = \frac{ИП + ИО}{ИП + ЛП + ИО + ЛО} \times 100\%$$

Обследование выборки группы пациентов (n=63) с лекарственной аллергией и сомнительным анамнезом на местные анестетики методом РАПЛ, позволило выявить следующее: на новокаин - положительных проб – 4 (6,3%), отрицательных 59 (93,7%), на лидокаин – положительных 5 (7,9%), отрицательных 58 (92,1%), ультракаин – положительных 6 (9,5%), отрицательных 57 (90,05%) (таблица 4).

Таблица 4

Результаты обследования методом РАПЛ пациентов с лекарственной аллергией и сомнительным анамнезом на местные анестетики методом РАПЛ (n=63).

Местные анестетики	Положительная РАПЛ абс(%)	Отрицательная РАПЛ абс(%)
новокаин	4(6,3%)	59(93,7%)
лидокаин	5(7,9%)	58(92,1%)
ультракаин	6(9,5%)	57(90,05%)

Среди пациентов аллергологического отделения без аллергии на местные анестетики (n=46) были получены следующие результаты: на новокаин выявлено положительных проб – 2 (4,3%), отрицательных 44 (95,7%), на лидокаин – положительных – 3 (6,5%), отрицательных 43 (93,5%), ультракаин – положительных 4 (7,7%), отрицательных 44 (95,7%) (таблица 5).

Таблица 5

Результаты обследования методом РАПЛ пациентов аллергологического отделения не имевших аллергии на местные анестетики (n=46).

Местные анестетики	Положительная РАПЛ абс(%)	Отрицательная РАПЛ абс(%)
новокаин	2(4,3%)	44(95,7%)
лидокаин	3(6,5%)	43(93,5%)
ультракаин	4(8,6%)	42(91,4%)

Проведенные исследования показали высокую диагностическую специфичность и чувствительность предложенных методов оценки сенсibilизации к местным анестетикам по РАПЛ.

Из результатов приведенных в таблицах 1, 2, 4, 5, видно, что РАПЛ была положительной чаще в группе с положительным анамнезом к МА: к новокаину у 80% пациентов, к лидокаину – у 74,2%, к ультракаину – у 91,6%. У пациентов с ЛА и сомнительным анамнезом на МА процент положительных реакций в РАПЛ был следующим: к новокаину в 6,3% случаев, к лидокаину – в 7,9%, к ультракаину – в 9,5% случаев.

В группе пациентов из аллергологического отделения не имевших аллергии на МА пробы были положительными: к новокаину в 4,3% случаев, к лидокаину – в 6,5%, к ультракаину – в 8,6% случаев. Пациенты из отделений без аллергопатологии и аллергии на МА имели следующий процент положительных проб в РАПЛ: к новокаину и лидокаину – в 3,8% случаев, а ультракаину – в 7,7% случаев.

Наличие сенсibilизации у некоторой части пациентов, у которых, хотя и не было непереносимости препаратов МА, но имели контакт с ними в анамнезе, что и привело к сенсibilизации организма к этим аллергенам, а лекарственная аллергия и аллергопатология являются угрожающими факторами, увеличивающими количество положительных реакций в соответствующих группах по сравнению с контрольной группой.

Заключение

Разработанная реакция антигениндуцированного повреждения лейкоцитов, для диагностики аллергии на местные анестетики, оказалась эффективной у пациентов с непереносимостью местных анестетиков.

В результате обследования выборок опытной и контрольной групп были установлены диагностические коэффициенты для пациентов с аллергией на новокаин (диагностическая чувствительность – 80%, диагностическая специфичность – 96,2%, и диагностическая эффективность – 86,8%), лидокаин (диагностическая чувствительность – 72,4%, диагностическая специфичность – 96,2%, и диагностическая эффективность – 85,9%) и ультракаин (диагностическая чувствительность – 91,6%, диагностическая специфичность – 92,3%, и диагностическая эффективность – 92%) в реакции антигениндуцированного повреждения лейкоцитов. Последнее позволяет рекомендовать реакцию антигениндуцированного повреждения лейкоцитов для диагностики аллергии к местным анестетикам у лиц с риском возникновения аллергических реакций при проведении местной анестезии.

Литература

1. Пыцкий, В. И. Неиммунные механизмы в патогенезе атопической группы заболеваний / В. И. Пыцкий // Аллергология и иммунология. – 2005. – № 1. – С. 98.
2. Chandler, M. J. Provocative challenge with local anesthetics in patients with a prior history of reaction / M. J. Chandler // J Allergy Clin. Immunol. –2009. –Р. 83.

3. Dewachter, P Anaphylaxis and anesthesia: controversies and new insights./ P Dewachter, C Mouton-Faivre // Anesthesiology. – 2009. –P. 111-114.
4. Boston Collaborative Drug Surveillance Program. Drug-induced anaphylaxis: a cooperative study // JAMA. – 1973. – Vol. 224. – P. 613-615.
5. Week, A. Z. For allergy diagnostic flow cytometry in order hands / A. Z. Week, M. L. Sanz // Clin. Exp. Allergy. – 2003. – Vol. 33 (6). – P. 849.
6. Patterson, R. Allergic Diseases Diagnosis and Management / R. Patterson, L. C. Grammer, P. A. Greenberger. – Philadelphia: Pa. Lippincott, 1993. – 396 p.
7. Muller, U. Emergency treatment of allergic reactions to Hymenoptera stings / U. Muller // Clin. Exp. Allergy. – 2008. – Vol. 21. – P. 281.
8. Allergic contact dermatitis from dibucaine hydrochloride, chlorpheniramine maleate, and naphazoline hydrochloride in an over-the-counter topical antiseptic./ Yamadori, Y, [et al.] // Asthma and Immunology. – 2009. – Vol. 91, N 1. – P. 26-32.
9. Лазарев, Д. Н. Лекарственная аллергия / Д. Н. Лазарев, В. В. Плечев, Е. К. Алехин. – Уфа: Башбиомед, 2000. – 104 с.
10. Новиков, Д. К. Лекарственная аллергия / Д. К. Новиков, Ю. В. Сергеев, П. Д. Новиков; под ред. Д. К. Новикова. – Москва: Нац. академия микологии, 2001. – 313 с.
11. Медицинские стандарты (протоколы) диагностики и лечения больных с аллергическими заболеваниями и нарушениями иммунной системы / Н. И. Ильина [и др.]; под общ. ред. Р. М. Хаитова. – 2-е изд., доп. – Москва, 2001. – 32 с.
12. Новиков, Д. К. Клиническая аллергология / Д. К. Новиков. – Минск: Высшая школа, 1991. – 511 с.
13. Пыцкий, В. И. Аллергические заболевания / В. И. Пыцкий, Н. В. Андрианова, А. В. Артомасова. – Москва: Триада-Х, 1999. – 797 с.
14. Malandain, H. Quelle valeur clinique accorder aux resultats chiffres des ddosages d,IgE specifiques? / H. Malandain // Ref. Fr. Allergol. et immunol. – 2002. – Vol. 31. – P. 139.
15. Patient suitability for cataract surgery under local anesthesia / Vlajković G, [et al.] // Clin. Exp.Immunol. – 2009. – Vol. 47. – P. 62.
16. Лебедев, К.А. Аллергические реакции на местные анестетики и методы их диагностики/ К.А. Лебедев, И.Д. Понякина, А.В. Митронин, Л.Г. Саган, М.Е. Горчаков, М.И. Годунова - 2005. МГМСУ, Москва.
17. Кононенко, Ю. Г. Местное обезболивание в амбулаторной стоматологии / Ю. Г. Кононенко, Н. М. Рожко, Г. П. Рузин. – Москва: Книга плюс, 2004. – 352 с.
18. Bush, W. H. Radiocontrast. Immunol / W. H. Bush, D. P. Swanson // Allergy Clin. North Am. – 1995. – Vol. 15. – P. 597-612.
19. Enright, T. The role of a documented allergic profile as risk factor for radiographic contrast media reactions / T. Enright // Ann. Allergy. – 1989. – Vol. 62. – P. 303.
20. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. – Москва - Витебск: Нац. академия микологии, 1996. – 282 с.