

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ЛИЗИСА ЛЕЙКОЦИТОВ  
И ИОНОВ КАЛИЯ В КРОВИ БОЛЬНЫХ С ЛЕКАРСТВЕННОЙ АЛЛЕРГИЕЙ  
К МЕСТНЫМ АНЕСТЕТИКАМ**

**А.Д. Алымкулова**

Институт молекулярной биологии и медицины.

(д.м.н., профессор М.И. Китаев),

г. Бишкек, Кыргызская Республика

**Резюме.** Изучены реакции специфического лизиса лейкоцитов и уровень ионов калия в крови у больных с лекарственной аллергией и в контрольной группе здоровых лиц без аллергии в анамнезе.

**Ключевые слова:** специфическая лизис лейкоцитов, ионы калия, лекарственная аллергия, местные анестетики.

**ЖЕРГИЛИКТҮҮ АНЕСТЕТИКТЕРГЕ АЛЛЕРГИЯСЫ БАР БЕЙТАПТАРДЫН  
КАНЫНДА КАЛИЙДИН ИОНДОРУН ЖАНА ЛЕЙКОЦИТТЕРДИН  
ӨЗГӨЧӨ ЭЭРҮҮ РЕАКЦИЯЛАРЫН ИЗИЛДӨӨ**

**А.Д. Алымкулова**

Молекулярдык биология жана медицина институту

(м.и.д., профессор М.И. Китаев),

Бишкек ш., Кыргыз Республикасы

**Корутунду.** Дары аллергиясы менен ооруган бейтаптардын канынан лейкоциттердин өзгөчө ээришин жана калий иондорунун көлөмүн көрсөтүүчү реакциялар изилденди. Ал эми көзөмөл жүргүзүлгөн топ ошондой эле дары аллергиясы жок дени сак адамдардан турган.

**Негизги сөздөр:** лейкоциттин өзгөчө ээриши, калийдин иону, дары аллергиясы, жергиликтүү анестетиктер.

**STUDY OF THE REACTION OF SPECIFIC LYSIS OF LEUKOCYTES  
AND POTASSIUM IONS IN BLOOD OF PATIENTS WITH DRUG ALLERGIES  
TO LOCAL ANESTHETICS**

**A.D. Alymkulova.**

Institute of Molecular Biology and Medicine

(MD., professor M.I. Kitaev),

Bishkek, the Kyrgyz Republic

**Resume.** This article deals with study of reactions of specific lysis of leukocytes and levels of potassium ions in patients with drug allergies, and in the control group of healthy individuals without allergy anamnesis.

**Keywords:** specific lysis of leukocytes, potassium ions, drug allergy, local anesthetics.

Среди населения планеты неуклонно растет распространенность неблагоприятных реакций на введение лекарств, которые являются причиной около половины всех случаев госпитализаций в отделения неотложной помощи [1]. Поэтому осложнения, связанные с лекарственной терапией, к которым относится и лекарственная аллергия (ЛА), представляют важнейшую медицинскую и социальную проблему.

ЛА – это повышенная чувствительность организма к лекарственным препаратам, в основе которой лежат иммунологические механизмы. Лекарственная чувствительность может встречаться у пациентов в любом возрасте (в основном от 20 до 50 лет), но у женщин наблюдается чаще [2].

В последние годы увеличивается частота проявлений ЛА и среди пациентов, которым проводится анестезия. Например, в стоматологии, она чаще всего связана с применением местных анестетиков и может сформироваться, как полагают, при частом или при длительном применении препаратов у больных с заболеваниями желудочно – кишечного тракта и гепатобилиарной системы [3].

По литературным данным ЛА часто сочетается с различными проявлениями гиперчувствительности на другие виды аллергенов. Среди больных, проходивших обследование, часто наблюдаются также другие виды аллергии: пищевая, бытовая, сопутствующий поллиноз [4].

Проблема ЛА к местным анестетикам заключается в том, что после их введения у больных часто развиваются системные реакции, в том числе и анафилактический шок [5]. Поэтому с целью выявления лиц с ЛА необходимо собрать подробный аллергологический и фармакологический анамнез [6], а при подозрении на непереносимость к местным анестетикам не применять их, что, к сожалению, часто бывает невозможным, особенно в стоматологии [7].

Методы определения непереносимости к местным анестетикам должны быть адекватными, безопасными для пациента и, по возможности, простыми в исполнении. Этим требованиям отвечают различные методы оценки лизиса или активации лейкоцитов после воздействия на клетки тестируемого вещества – реакции специфического лизиса лейкоцитов, альтерации лейкоцитов [8] и выброса ионов калия из лимфоцитов [9].

Сущность реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) *in vitro* состоит в том, что при соприкосновении лейкоцитов сенсibilизированного организма с соответствующим антигеном происходит чрезмерное их повреждение вплоть до полного растворения. Такое проявление реакции происходит в сенсibilизированном организме при повторных контактах с аллергеном. Поэтому специфический лизис лейкоцитов называют еще аллергическим. Быстрое проявление реакции при воздействии антигеном позволяет отнести ее к разряду аллергий немедленного типа [10].

РСЛЛ в различных модификациях проста и доступна, поэтому применяется и для диагностики аллергии, вызванной лекарственными и химическими препаратами. Поиски рационального применения этого теста продолжаются [11]. Альтерация лейкоцитов *in vitro* в ее разнообразных аспектах является объективным методом изучения сенсibilизации организма при аллергических заболеваниях, где возможно применение специфических аллергенов.

Сущность второго метода, использованного нами состоит в том, что лимфоциты, инкубированные с местным анестетиком, выделяют в надосадочную жидкость внутриклеточный калий, по приросту которого судят о сенсibilизации лимфоцитов. Калий (K<sup>+</sup>) – это основной внутриклеточный электролит, который участвует в поддержании электронного мембранного потенциала клеток, регулирует внутриклеточное осмотическое давление, обладает иммуномодулирующей активностью. Депо калия в организме не существует.

**Цель исследования:** комплексное исследование больных для определения чувствительности к местным анестетикам с помощью реакции специфического лизиса лейкоцитов и выброса ионов калия из лимфоцитов.

#### **Материалы и методы**

Нами были обследованы 50 пациентов (38 женщин и 12 мужчин), выбранных произвольно, в возрасте от 18 до 50 лет (средний возраст  $34,1 \pm 1,42$ ), страдающих лекарственной аллергией из стоматологических поликлиник города Бишкек и Чуйской области. Допускалось наличие других сопутствующих видов аллергии, таких как пыльцевая, пищевая. Для предварительной оценки наличия ЛА проводился опрос пациентов по анкете, учитывающей наличие лекарственной непереносимости. Пациентам данной группы ранее неоднократно вводились местные анестетики.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых пациентов (15 женщин и 5 мужчин), средний возраст  $22,7 \pm 5,2$  лет, без аллергопатологии, проживающие в городе Бишкек. Распределение пациентов по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение пациентов по полу и возрасту

Группы	Пол (количество / абсолютное число)		Возраст (M ± m)
	Мужчины	Женщины	
Контрольная группа (n = 20)	5 (25,2 %)	15 (74,8%)	22,7±5,2
Основная группа (n = 50)	12 (24,6%)	38 (75,4 %)	34,1 ±1,42

РСЛЛ проводили с использованием препаратов местных анестетиков мепивастезин, 3% раствор в разведении 1:1000 в 0,9% растворе хлорида натрия.

Один мл такого раствора содержит 30 мг активного вещества – мепивакаина гидрохлорида.

Взятие крови для исследования осуществляли из вены локтевого сгиба в количестве 3 мл и вносили в пробирку с антикоагулянтом (3,8% цитрат натрия).

Реакция специфического лизиса лейкоцитов проводилась следующим образом: в две пробирки с антикоагулянтом помещали по 0,1 мл крови. В первую пробирку добавлялся 0,1 мл разведенного местного анестетика (опытная пробирка), во вторую – 0,1 мл 0,9% физиологического раствора для установления неспецифического лизиса лейкоцитов (контрольная пробирка). После тщательного перемешивания в течение 1-2 минуты пробирки помещались в термостат на 2 часа при 37°С. После инкубации пробирки вновь встряхивались и проводился подсчет количества лейкоцитов в опыте и в контроле в камере Горяева. Коэффициент лизиса лейкоцитов (КЛЛ) вычислялся по следующей формуле:

$$КЛЛ = \frac{\text{Лейкоциты контроля после инкубации}}{\text{Лейкоциты опыта после инкубации}} \times 100\%$$

Оценку результатов специфического лизиса лейкоцитов проводили путем расчета разницы лейкоцитов в контрольной и опытной пробирках в процентах (%).

Уровень ионов калия в лимфоцитах крови определяли путем внесения в пробирку исследуемой лимфосуспензии и аллержена, то есть местного анестетика – мепивастезина. Смесь инкубировали в термостате при температуре 37°С, затем центрифугировали. В надосадочной жидкости определяли концентрацию ионов калия с использованием анализатора электролитов. Содержание ионов калия в лимфоцитах крови исследовали с помощью пламенного фотометра ПФМ – УХ 4.2.

Оценку результатов выброса ионов калия из лимфоцитов проводили по измерению разницы в концентрации ионов калия в опытной и контрольной пробирках в процентах (%). Лимфоциты, инкубированные с местным анестетиком, выделяют в надосадочную жидкость внутриклеточный калий, по приросту которого судят о сенсибилизации лимфоцитов.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием общепринятых методов математической статистики. Для определения достоверности различий количественных признаков использован t – критерий Стьюдента и показатель достоверности Р.

#### Результаты и обсуждение

Результаты комплексного исследования больных для определения чувствительности к местным анестетикам с помощью реакции специфического лизиса лейкоцитов и выброса ионов калия из лимфоцитов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели РСЛЛ и содержание ионов калия в лимфоцитах у больных с лекарственной гиперчувствительностью к местному анестетику «мепивастезин» (M ± m)

Группы	Реакция специфического лизиса лейкоцитов(%)	Выброс ионов калия из лимфоцитов(%)	Р
Контрольная группа (n=20)	2,1±0,48	5,4±0,7	P<0,05
Основная группа (n=50)	20,0±0,27*	32,2±1,63*	P<0,05

\* – результат отличается от данных контрольной группы здоровых лиц (p< 0,05).

Как следует из нее, среднее число альтерированных лейкоцитов к местному анестетику «мепивастезин» у обследованных стоматологических пациентов ( $20,0 \pm 0,27$ ) превышало примерно в 10 раз соответствующий показатель у практически здоровых лиц ( $2,1 \pm 0,48$ ) ( $P < 0,05$ ), а средняя величина выброса ионов калия из лимфоцитов у пациентов была выше таковой у практически здоровых лиц в среднем в 6 раз ( $32,2 \pm 1,63$  и  $5,4 \pm 0,7$  у больных и здоровых, соответственно;  $P < 0,05$ ).

Следует отметить, что оба использованных метода показывали высокую чувствительность (среди 50 пациентов с достоверно положительным аллергоанамнезом на ЛА к препарату «мепивастезин» положительные результаты на РСЛЛ и выброса ионов калия зарегистрированы, соответственно, у 46 и 50 больных, а ложноотрицательные – только у 4 пациентов) и специфичность (среди здоровых лиц не зарегистрировано ни одного случая ложноположительного результата на оба метода).

Таким образом, использованный нами метод комплексного исследования непереносимости к местным анестетикам на основе реакции специфического лизиса лейкоцитов и выброса ионов калия из лимфоцитов может быть предложен для диагностики аллергии к местным анестетикам, поскольку он обладает высокой информативностью, а также безопасностью для пациента.

#### Литература

1. Solensky R., Khan D. Drug allergy; an updated practice parameter. 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// *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2010; 105; 259-273.
2. Лусс Л.В., Проблемы диагностики и профилактики лекарственной аллергии к местным анестетикам. *Практическая медицина*. М., - 2009. - №3. – С.32-36.
3. Зайков С.В. Дмитриева Э.Н., Проблема лекарственной аллергии в анестезиологии. *Рациональная фармакотерапия*. Украина, - 2009. - №3. – С. 52-58.
4. Ахмалтдинова Л.Л. Старикова С.Ю. Клинико – эпидемиологические особенности лекарственной аллергии // *Международный научно-практический рецензируемый журнал; Иммунопатология, аллергология, инфектология*. -2011. - №4.- С. 24-26.
5. Степанова Е.В. Современные аспекты диагностики и лечения лекарственной аллергии. *Журнал «Лечащий врач»*. М., -2009.-№4.-С.13-17.
6. Передкова Е.В., Непереносимость местных анестетиков. Алгоритмы выбора препарата. *Аллергология и иммунология*. М.,2013 - №1. -С. 44 - 51.
7. Petterson R., DeSwarte R.D.etal. Drug allergy and protocols for management of drug allergies // *Allergy Proc*. 1994; 15; P. 239-241.
8. Карпук И.Ю., Захарова О.В., Коневалова Н.Ю. Комплексная диагностика аллергии на местные анестетики. // *Международный научно - практический рецензируемый журнал; Иммунопатология, аллергология, инфектология*. М.,2010.– №2.–С. 53–60.
9. Использование метод определения уровня ионов калия в лимфоцитах крови для диагностики поллинозов. Инструкция по применению. Федорович С.В., Цыганкова О.Ф., Яковлева Л.Ф., и соавт. *Научно-практический центр гигиены республики*. Беларусь. 2005.
10. Карапата А.П. Специфическая альтерация лейкоцитов *in vitro* // *Лабораторное дело*. -1971.-№5.-С. 259-263.
11. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артамонова А.В. Аллергические заболевания. – М., 1991.- 115 с.