

М.А. Сновская¹, Л.С. Намазова-Баранова^{1, 2, 3}, Е.Л. Семикина^{1, 2}, О.В. Кожевникова¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

Особенности диагностического обследования пациентов с поливалентной сенсibilизацией перед проведением аллергенспецифической иммунотерапии и оценка ее результатов лабораторными методами

В связи с широким распространением атопии, ранним началом заболевания, многообразием форм, сложностью патогенетического лечения, а также высокой стоимостью *in vitro* исследований возникла необходимость развития и оптимизации диагностических тест-систем. **Цель исследования:** оценить эффективность диагностического обследования детей с поливалентной аллергией и проанализировать влияние аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ) на изменение содержания иммунных маркеров для выбора наиболее значимого прогностического показателя. **Пациенты и методы:** 457 детей (средний возраст $8,9 \pm 4,3$ лет) с клиническими симптомами поллиноза, преобладающими в весенний период, были протестированы на наличие аллергенспецифических иммуноглобулинов класса E (sIgE) к экстракту аллергенов пыльцы березы. Пациенты, у которых был выявлен значимый уровень sIgE ($n = 243$), были затем протестированы с расширенной панелью растительных аллергенов (пыльца березы, ольхи, лецины, дуба, аллергены фруктов семейства розоцветных и моркови) и панелью алерго-компонентов пыльцы березы (Bet v1, Bet v2, Bet v4, Bet v6). Из них 32 пациента получили 2 курса аллергенспецифической иммунотерапии. Иммунологические исследования были выполнены методом непрямой иммунофлуоресценции на анализаторе ImmunoCAP 250 (Швеция). **Результаты:** было показано, что определение содержания sIgE к аллергенам березы позволяет оценить степень сенсibilизации к аллергенам родственных деревьев и прогнозировать их количественные значения. Уровень sIgE к аллергенам дуба является хорошим прогностическим параметром содержания sIgE к пищевым аллергенам растительного происхождения, а значение концентрации sIgE к аллергенам яблока тесно связано с sIgE к аллергенам фруктов семейства розоцветных. Выявление сенсibilизации к минорным аллергенам влияет на прогноз эффективности терапии. **Выводы:** таким образом, для оценки содержания у пациента с атопией sIgE к растительным аллергенам, вызывающим перекрестные реакции, эффективным является определение sIgE к ограниченному числу аллергенов (береза-дуб-яблоко). Применение компонент-разделенной *in vitro* диагностики, направленной на выявление сенсibilизации к минорным аллергенам, актуально при решении вопроса о назначении АСИТ и прогнозировании ее эффективности. Значимые результаты терапии показаны после двукратного курса АСИТ, которая также позволяет значительно снизить образование sIgE к причинно-значимым аллергенам и перекрестно реагирующим пищевым аллергенам растительного происхождения. **Ключевые слова:** атопия, поллиноз, поливалентная сенсibilизация, перекрестные аллергические реакции, спектр сенсibilизации, паналлергены, главные и минорные аллергены, аллергенспецифическая иммунотерапия. (Вестник РАМН. 2014; 7–8: 85–92)

85

Введение

Ввиду высокой распространенности аллергических болезней по всему миру, прогрессирующего роста числа случаев тяжелых аллергических реакций, раннего начала болезни, ухудшения качества жизни самого пациента и его семьи [1] на протяжении последних десятилетий активно изучают механизмы этих иммунопатологических реакций, разрабатывают диагностические тест-системы и подходы для повышения эффективности противоаллергической терапии [2]. В то же время диагностический поиск причинного аллергена затруднен у пациентов с поливалентной сенсibilизацией и/или с перекрестными реакциями на аллергены генетически неродственных групп [3, 4]. Множественная аллергия (ранее для описания этого явления использовали термин «поливалентная сенсibilизация»), которая может проявляться как в возрасте нескольких месяцев жизни, так и в более старшем возрасте, затрагивает большое число пациентов с аллергическими болезнями. Так, у 40–70% больных

поллинозом также обнаруживают аллергические реакции на пищевые продукты растительного происхождения, в т.ч. не относящиеся к перекрестным антигенам, клинически выражающиеся широким спектром проявлений от легкого ринита до тяжелой анафилаксии [5]. Причина этих сочетанных реакций заключается в значительной гомологичности молекулярных структур многих аллергенов [6]. Частота перекрестных реакций на аллергены различается в зависимости от степени их структурного сходства. Причем перекрестная сенсibilизация зачастую вызвана чувствительностью не только к главным аллергенам того или иного пищевого или пыльцевого продукта, но и наличием т.н. минорных аллергенов, или паналлергенов [6]. Паналлергены — это структурные компоненты клеток растительного или животного происхождения, часто выполняющие схожие функции у неродственных, таксономически далеких видов [7]. Белки данной группы очень широко распространены в природе. Многие исследователи подчеркивают роль определения сенсibilизации к минорным аллергенам в постановке

M.A. Snovskaya¹, L.S. Namazova-Baranova^{1, 2, 3}, E.L. Semikina^{1, 2}, O.V. Kozhevnikova¹¹ Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Features of Patients with the Multiple Sensitization Diagnostics before Allergen Specific Immunotherapy Will Be Set and the Assessment of the Therapy Results with the Laboratory Methods

Background: Due to the wide expansion of atopy, its early beginning, variety of forms, difficulty of specific pathogenetic treatment, and also high cost of *in vitro* researches there is a need of diagnostic test systems development and optimization. **Aim:** To make the assessment of atopy diagnostics efficiency in children with a multiple allergy and the analysis of specific immunotherapy (ASIT) influence on immune markers level in serum for a choice of the most significant predictive indicator. **Patients and methods:** 457 children (mean age 8,9±4,3 years) with pollinosis symptoms that prevalence in spring period were tested with birch pollen allergens extract by detecting allergen-specific immunoglobulin E (sIgE) levels. Then patient with showed positive sIgE level (243 children) were tested with expanded set of plant allergens (birch, alder, hazel, oak pollen, allergens of Rosaceae family and carrot) and set of birch pollen allergocomponents (Bet v1, Bet v2, Bet v4, Bet v6). From them 32 patients were treated with allergen-specific immunotherapy. Immunological assays were performed by indirect immunofluorescent method on ImmunoCAP250 (Sweden). **Results:** It was shown that birch allergens sIgE antibodies detection in patients with pollinosis allows to estimate sensitization degree to allergens of related trees and could predict their quantitative values. The oak allergens sIgE level is a good predictive marker of sIgE level to food plant derived allergens. And apple allergens sIgE concentration is closely associated with sIgE to fruit allergens of Rosaceae family. Detection of sensitization to minor allergens in patient influences on therapy efficacy prognosis. **Conclusion:** sIgE detection to limited number of allergens (birch-oak-apple) is effective to sIgE value assessment in patient with allergy to plant causing allergens cross reactivity. Component-divided *in vitro* diagnostics directed on reveal of sensitization caused by minor allergens, is actual at the answer a question about ASIT validity and its efficiency. Component-divided *in vitro* diagnostics directed on reveal of sensitization caused by minor allergens, is actual at the answer a question about ASIT validity and its efficiency. Significant results of the therapy are shown after double course ASIT that also allows to reduce considerably production of sIgE antibodies to significant allergens, and cross reacting plant food allergens.

Key words: atopy, pollinosis, polyvalent sensitization, allergic cross-reactions, a sensitization range, panallergens, the major and minor allergens, allergen-specific immunotherapy.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 7–8: 85–92)

86

правильного диагноза и назначении корректной терапии [3, 8]. Так, в Центральной и Северной Европе пыльца березы как причина поллиноза и аллергического ринита составляет почти 20% всех случаев пыльцевой аллергии. Приблизительно 70% всех пациентов с респираторной аллергией, обусловленной пылью березы, также страдают пищевой аллергией (в основном на фрукты семейства розоцветные, а также на фундук, сельдерей и морковь). Различных исследователи пришли к выводу, что в связи с этим первоначальным пусковым фактором является ингаляционная сенсibilизация к березовой пыльце [9], содержащей помимо главного аллергенного белка Bet v 1 также и минорные белки-аллергены, такие как Bet v 2 (профилин), Bet v4 (полкальцин), Bet v 6 (изофлавоноид редуктаза) и Bet v 8 (пектиновая эстераза) [10].

При обследовании таких пациентов актуальным является подтверждение атопической природы заболевания, выявление наиболее значимого фактора (факторов), вызывающего развитие клинических симптомов аллергии, оценка применимости аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ) и прогнозирование ее результатов [11, 12]. Несмотря на это, в широкой клинической практике для диагностики аллергии используют не отдельные компоненты, а целые экстракты растительных, животных, инсектных аллергенов, что затрудняет диагностический поиск истинного сенсibilизирующего агента и, как следствие, препятствует назначению адекватной терапии [12]. Таким образом, диагностика причинного фактора является основой не только верного диагноза, но и жизнеспасающей эффективной терапии. Благодаря развитию технологии иммунофлуоресцентного анализа

стало возможным точное количественное определение содержания антител класса E (IgE) в сыворотке крови пациентов. Метод UniCAP сохраняет за собой лидирующее значение при необходимости точного количественного определения концентрации IgE, требуя при этом от врача более тщательного сбора анамнеза, что также повышает качество диагностики [13, 14].

Цель исследования: оценить эффективность диагностического обследования детей с множественной аллергией и проанализировать влияние аллергенспецифической иммунотерапии на изменение содержания иммунных маркеров для выбора наиболее значимого прогностического показателя.

Пациенты и методы

Участники исследования

В консультативно-диагностическом центре Научно-го центра здоровья детей было обследовано 457 детей (средний возраст 8,9±4,3 лет), имеющих отягощенный аллергологический анамнез, клинические симптомы поллиноза, преобладающие в весенний период, а также гиперчувствительность к пищевым продуктам растительного происхождения. Пациенты на момент обследования не получали ни кортикостероидной, ни аллергенспецифической терапии.

Методы исследования

Всем детям была проведена *in vitro* диагностика образцов сыворотки крови и определены концентрации sIgE

к цельному экстракту аллергенов пыльцы березы (sIgEt3), а пациенты, показавшие диагностически значимые титры антител sIgE к аллергенам березы ($n = 243$), были протестированы расширенной панелью тестов на наличие антител к пыльцевым аллергенам родственных березе деревьев (ольха, лещина, дуб), пищевым аллергенам растительного происхождения (яблоко, груша, персик, вишня, морковь), рекомбинантным алергокомпонентам пыльцы березы (rBet v1, rBet v2, rBet v4, rBet v6).

Иммунологическое обследование проводили методом непрямой иммунофлуоресценции на анализаторе ImmunoCAP 250 (Швеция). По данным производителя, порог чувствительности анализатора составляет 0,01 кЕ/л, граница cut-off для специфических IgE принята равной 0,35 кЕ/л [14]. Также в интерпретации результатов использовали деление полученных концентраций антител sIgE на классы сенсibilизации согласно рекомендациям производителя [13, 14].

Из обследованных детей 32 пациентам с поллинозом в возрасте от 5 до 17 лет в соответствии с клиническими проявлениями и анамнестическими сведениями было проведено 2 курса АСИТ с причинно-значимыми пыльцевыми аллергенами (береза, дуб, лещина, ольха) сублингвальным методом. Использовали водно-солевой экстракт белково-полисахаридных комплексов, выделенных из пыльцы деревьев (Микроген, Россия). После окончания основного курса пациенты получали поддерживающую терапию аллергеном в течение 3,5 мес. Повторное определение концентрации sIgE к ингаляционным, пищевым аллергенам и алергокомпонентам rBet v1 и rBet v2 выполняли перед началом 2-го курса АСИТ, а также через 1 год после его окончания.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета программ STATISTICA v. 8 (StatSoft Inc., США), пакета MedCalc Soft, программы Microsoft Office Excel методами корреляционного и множественного регрессионного анализа. Для описания данных с распределением, отличным от нормального, центральные тенденции и дисперсии количественных признаков описывали медианой и интерквартильным размахом, а различия между группами оценивали при помощи непараметрических статистических критериев. Оценка результатов терапии АСИТ базировалась на применении теста Фридмана, а также применялся трендовый анализ для построения прогноза терапии. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В результате первичного тестирования пациентов с поллинозом и пищевой аллергией у 243 (53,7%) детей в сыворотке крови были обнаружены sIgE к цельному экстракту аллергенов березы выше порогового значения 0,35 кЕ/л. При последующем исследовании отобранных образцов более чем у 90% детей зафиксировали диагностически значимые титры sIgE к цельным экстрактам аллергенов ольхи, лещины, яблока, персика; более чем у 80% — к аллергенам дуба, груши; более чем у 70% — к моркови. Данные представлены на рис. 1.

При проведении корреляционного анализа Спирмена была установлена статистически значимая сильная связь между концентрациями sIgE к аллергенам березы и аллергенам деревьев семейства березовых ($r = 0,92$; $0,83$; $0,72$ для ольхи, лещины и дуба, соответственно); силь-

ная или средняя — между sIgE к аллергенам дуба и аллергенам фруктов и моркови ($r > 0,7$ для яблока, персика, вишни; $r = 0,63$ для груши; $r = 0,41$ для моркови); средняя — между sIgE к аллергенам пищевых продуктов и аллергенам березы ($r > 0,45$ для аллергенов фруктов, $r = 0,35$ — для моркови).

Применяя регрессионный анализ — статистический метод исследования влияния одной или нескольких независимых переменных на зависимую переменную с целью предсказания ее значения, мы продемонстрировали высокую прогностическую силу концентрации антител к цельному аллергену пыльцы березы (sIgEt3) в отношении уровня антител к аллергенам ольхи, лещины и умеренную силу в отношении антител к аллергенам дуба [коэффициенты детерминации (R^2) были равны $R^2 = 0,87$; $R^2 = 0,72$; $R^2 = 0,62$, соответственно; $p < 0,01$]. В отношении пищевых аллергенов установлено, что наиболее сильное влияние на прогноз значения sIgE оказывает содержание в сыворотке sIgE к дубу — sIgEt7 ($R^2 > 0,50$; $p < 0,001$).

Для оценки и прогнозирования содержания sIgE к пыльцевым аллергенам в сыворотке крови пациентов были рассчитаны их относительные концентрации, выраженные в процентах от содержания sIgE к аллергенам березы. Относительные концентрации применяли с целью нормирования результатов, имеющих крайне широкий разброс значений (от 0,10 до 100 кЕ/л).

Основные характеристики распределения параметров в зависимости от титра антител к аллергенам березы отражены в табл. 1.

У пациентов с повышенным содержанием sIgEt3 отмечалась большая концентрация sIgE к аллергенам родственных деревьев. Однако данная зависимость была нелинейна, в связи с чем значения относительных концентраций антител sIgE к пыльцевым аллергенам (sIgEt2* — ольхи, sIgEt4* — лещины, sIgEt7* — дуба) были разделены на 7 групп, соответствующих классам сенсibilизации: 0÷0,34 кЕ/л — 0 класс, 0,35÷0,69 кЕ/л — I класс, 0,70÷3,49 кЕ/л — II класс, 3,5÷17,49 кЕ/л — III класс, 17,5÷49,9 кЕ/л — IV класс, 50,0÷99,9 кЕ/л — V класс, более 100 кЕ/л — VI класс. В соответствии с ними были определены диапазоны относительных концентраций антител, в которые попадает 95% всех значений. Данные представлены в табл. 2.

Содержание антител sIgE к аллергенам ольхи, лещины, дуба у всех пациентов было меньше концентрации sIgE к березе и находилось в определенной зависимости от ее абсолютного значения. Это позволило прогнозировать

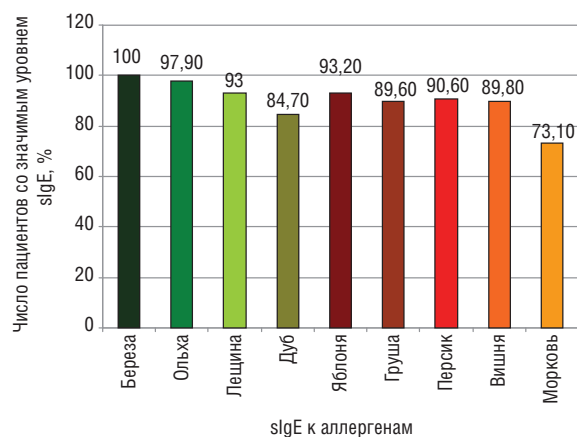


Рис. 1. Частота обнаружения антител к растительным аллергенам при значимых уровнях sIgE к аллергенам березы.

Таблица 1. Основные характеристики относительных концентраций антител sIgE к аллергенам пыльцы деревьев, в % от концентрации sIgE к аллергенам березы

sIgE	Среднее значение	Стандартное отклонение	Медиана	25-й перцентиль	75-й перцентиль
К ольхе	62,45	18,12	64,26	48,39	74,59
К лещине	33,33	16,81	30,19	22,10	41,30
К дубу	16,17	11,10	13,24	7,96	21,70

Таблица 2. Диапазоны относительной концентрации антител sIgE к аллергенам ольхи, лещины, дуба в зависимости от титра антител к аллергенам березы

sIgE	sIgEt3, класс I (0,35–0,69 кЕ/л)		sIgEt3, класс II (0,70–3,49 кЕ/л)		sIgEt3, класс III (3,5–17,49 кЕ/л)		sIgEt3, класс IV (17,5–49,9 кЕ/л)		sIgEt3, класс V (50,0–99,9 кЕ/л)		sIgEt3, класс VI (>100 кЕ/л)	
	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До
К ольхе, %	44,93	81,18	32,15	86,64	26,83	81,19	29,77	84,90	34,93	86,21	45,8	94,90
К лещине, %	27,69	64,95	12,94	65,00	9,30	42,20	9,92	46,30	11,33	58,80	12,1	69,24
К дубу, %	15,38	38,00	7,38	33,42	4,17	29,69	2,25	26,70	2,67	30,10	5,54	34,67

Таблица 3. Диапазоны значений концентрации антител к аллергенам фруктов семейства розоцветных и аллергенам моркови в зависимости от концентрации sIgE к аллергенам дуба

sIgE	sIgEt7, класс 0 (0,01–0,34 кЕ/л)		sIgEt7, класс I (0,35–0,69 кЕ/л)		sIgEt7, класс II (0,70–3,49 кЕ/л)		sIgEt7, класс III (3,5–17,49 кЕ/л)		sIgEt7, класс IV (17,5–49,9 кЕ/л)	
	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До
Яблоко	0,07	0,61	0,11	1,08	0,29	4,55	0,70	9,65	1,86	22,20
Груша	0,11	0,71	0,08	1,28	0,22	2,41	0,41	7,20	1,74	19,90
Персик	0,08	0,43	0,17	1,39	0,22	4,41	0,60	7,75	1,57	25,00
Вишня	0,08	0,44	0,10	1,53	0,22	2,95	0,63	7,76	1,52	19,00
Морковь	0,01	0,35	0,03	1,21	0,02	3,41	0,07	5,43	0,08	10,30

Таблица 4. Диапазоны значений концентрации антител к аллергенам фруктов семейства розоцветных и аллергенам моркови в зависимости от концентрации sIgE к аллергенам березы

sIgE	sIgEt3, класс I (0,35–0,69 кЕ/л)		sIgEt3, класс II (0,70–3,49 кЕ/л)		sIgEt3, класс III (3,5–17,49 кЕ/л)		sIgEt3, класс IV (17,5–49,9 кЕ/л)		sIgEt3, класс V (50,0–99,9 кЕ/л)		sIgEt3, класс VI (>100 кЕ/л)	
	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До
Яблоко	0,14	1,15	0,11	1,08	0,18	2,84	0,34	8,60	0,74	12,00	1,63	47,50
Груша	0,18	2,22	0,08	1,38	0,16	3,06	0,23	4,80	0,47	8,74	1,04	23,80
Персик	0,22	1,11	0,08	2,38	0,09	2,37	0,22	7,45	0,66	10,89	1,33	37,50
Вишня	0,20	0,90	0,10	1,57	0,09	3,55	0,22	5,20	0,76	8,23	1,52	28,40
Морковь	0,07	0,69	0,07	2,48	0,03	2,86	0,02	4,57	0,07	6,10	0,16	29,50

вать содержание sIgE к аллергенам родственных березе деревьев и оценить класс сенсibilизации для этих аллергенов.

Для оценки и прогнозирования уровня sIgE к пищевым аллергенам растительного происхождения в сыворотке крови пациентов было рассмотрено распределение абсолютных значений sIgE к аллергенам пищевых продуктов в зависимости от уровня sIgE к аллергенам дуба (как наиболее сильного прогностического фактора среди протестированных в исследовании аллергенов пыльцы деревьев — коэффициент детерминации составил более 0,50) и аллергенам березы (как наиболее часто дающего положительный ответ при *in vitro* тестировании). Были определены диапазоны значений, в которые попадает 95% всех результатов. Данные представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, при титрах антител к аллергенам дуба, соответствующих классу 0–III сенсibilизации, концентрация антител к аллергенам фруктов и моркови также не выходила за пределы класса III, а при концентрации sIgEt7 в диапазоне 17,5–49,9 кЕ/л — не превышала 25 кЕ/л. Таким образом, содержание в сыворотке

sIgE к аллергенам дуба явилось маркером концентрации антител к изучаемым пищевым аллергенам.

Результаты применения показателя концентрация sIgE березы как прогностического фактора приведены в табл. 4.

С повышением содержания sIgE к аллергенам березы наблюдали рост титра антител к пищевым аллергенам растительного происхождения. Однако при концентрации sIgEt3 в диапазоне 0,35–49,9 кЕ/л титр антител к фруктам и моркови не превышал 12 кЕ/л и варьировал от диагностически незначимых до положительных концентраций. У пациентов, у которых концентрация sIgE к аллергенам березы превышала 50,0 кЕ/л, выявляли диагностически значимые концентрации sIgE к аллергенам фруктов, не превышающие значений, соответствующих классу III сенсibilизации при sIgEt3 50,0–99,9 кЕ/л и классу IV — при sIgEt3 >100 кЕ/л.

С целью нормирования результатов были рассчитаны относительные концентрации sIgE к пищевым аллергенам, выраженные в процентах от содержания антител к аллергенам березы. Для каждой группы аллергенов был

Таблица 5. Диапазоны относительной концентрации антител к аллергенам фруктов семейства розоцветных и аллергенам моркови, в % от концентрации sIgE к аллергенам березы

% пациентов, попадающих в данный интервал	sIgE к яблоку		sIgE к груше		sIgE к персику		sIgE к вишне		sIgE к моркови	
	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До
95	0,17	41,48	0,17	28,70	0,29	39,24	0,22	29,06	0,10	35,17
92	0,17	34,49	0,17	20,98	0,29	30,20	0,22	22,30	0,10	20,07

Таблица 6. Диапазоны концентраций антител к пищевым аллергенам в зависимости от концентрации sIgE к аллергенам яблока

sIgE	sIgE f49, класс 0 (0,01–0,34 кЕ/л)		sIgE f49, класс I (0,35–0,69 кЕ/л)		sIgE f49, класс II (0,70–3,49 кЕ/л)		sIgE f49, класс III (3,5–17,49 кЕ/л)		sIgE f49, класс IV (17,5–49,9 кЕ/л)		sIgE f49, класс V (50,0–99,9 кЕ/л)	
	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До	От	До
К груше	0,07	0,45	0,13	0,81	0,31	2,28	1,59	9,46	8,10	22,40	20,30	66,60
К персику	0,03	0,36	0,18	1,29	0,52	4,01	1,70	14,90	3,07	37,10	31,50	91,20
К вишне	0,08	0,49	0,14	0,76	0,43	2,84	1,30	10,80	6,35	28,40	24,30	86,40
К моркови	0,01	0,35	0,01	1,50	0,06	2,74	0,08	10,10	0,80	31,60	1,93	42,10

определен 95% диапазон относительных концентраций. Данные приведены в табл. 5.

Таким образом, содержание sIgE к аллергенам фруктов и моркови было меньше концентрации антител к аллергенам березы у всех пациентов. Уровень их составлял не более 20–35% концентрации sIgEt3 для более чем 90% обследованных. Ввиду этого, зная концентрацию антител к аллергенам березы, мы можем прогнозировать содержание sIgE к аллергенам фруктов и моркови, а показатель sIgEt3 является маркерным параметром уровня антител к изучаемым пищевым аллергенам.

При исследовании развития ответа на аллергены фруктов семейства розоцветных была обнаружена статистически значимая сильная корреляция между содержанием антител к аллергенам яблока и исследуемым аллергенам фруктов ($r > 0,85$ для всех фруктов; $p < 0,01$) и средняя связь с содержанием антител к аллергенам моркови ($r > 0,55$; $p < 0,010$). Параметр sIgEf49 (антитела к цельному экстракту аллергенов яблока) являлся хорошим предиктором для концентрации антител к аллергенам изучаемых фруктов ($R^2 = 0,75$; $R^2 = 0,85$; $R^2 = 0,87$ для концентрации sIgE к аллергенам персика, груши и вишни, соответственно). На основании этого были рассчитаны диапазоны, в которые попадает 95% всех значений sIgE к аллергенам фруктов в зависимости от абсолютных значений sIgE к аллергенам яблока. Данные приведены в табл. 6.

С нарастанием титра антител sIgE к аллергенам яблока наблюдали взаимосвязанный рост концентрации sIgE к аллергенам изучаемых пищевых продуктов. Выделенные диапазоны значений позволяют предсказать содержание в сыворотке крови антител к аллергенам фруктов и моркови у 95% пациентов, а содержание sIgE к аллергенам яблока при этом определить как маркер концентрации антител к аллергенам родственных растений и применять его в качестве прогнозирующего теста.

При оценке результатов определения концентрации sIgE к алергокомпонентам пыльцы березы нами показано, что более чем у 90% пациентов содержание sIgE к rBet v1 превышало порог cut-off 0,35 кЕ/л. В то же время значимый уровень sIgE к минорным аллергенам пыльцы березы встречался редко: в 10,95% случаев обнаружены sIgE к rBet v2, в 4,44% — к rBet v4, в 17,04% — к rBet v6.

Между значением концентрации sIgE к rBet v1 и уровнями sIgE к цельным экстрактам аллергенов березы, ольхи, лещины имела место статистически значимая

сильная корреляция ($r = 0,94$; $0,89$; $0,71$, соответственно; $p < 0,01$) и средняя корреляция — по отношению к содержанию антител к аллергенам дуба ($r = 0,52$; $p < 0,01$). В отношении антител к минорным аллергенам корреляция средней силы выявлена между sIgE к rBet v2 и к моркови ($r = 0,60$; $p < 0,01$), концентрацией антител к rBet v6 и к аллергенам яблока, груши, вишни, персика и моркови ($r = 0,47$; $0,41$; $0,42$; $0,38$; $0,39$, соответственно; $p < 0,01$).

Для оценки прогностической способности параметров sIgE к Bet v1 и к минорным аллергенам в отношении определения содержания антител к цельным аллергенным экстрактам (пыльцы деревьев и пищевых продуктов) был применен регрессионный анализ. Оказалось, что значение параметра sIgE к rBet v1, определенного в ходе *in vitro* тестирования сыворотки, позволяет оценивать содержание в сыворотке sIgE к цельному экстракту аллергенов пыльцы березы более чем у 90% пациентов ($R^2 = 0,916$; $p < 0,001$), и более чем у 80% пациентов можно оценить содержание значений sIgE к цельному экстракту аллергенов ольхи ($R^2 = 0,829$; $p < 0,001$). В отношении значения sIgE к остальным изучаемым аллергенам анти-rBet v1-антитела имели низкую предсказательную силу. Значение концентрации rBet v2, определенного *in vitro*, оказывало влияние только на оценку концентрации антител к аллергенам моркови ($R^2 = 0,61$; $p < 0,001$). Значение sIgE к rBet v4 и rBet v6 не имели значимого влияния на прогноз содержания в сыворотке антител к изучаемым пыльцевым и пищевым аллергенам.

Пациенты с поллинозом, включенные в программу проведения АСИТ, при обследовании до начала терапии имели концентрацию sIgE к пыльцевым аллергенам, в т.ч. к rBet v1, и аллергенам фруктов, превышающую границу cut-off 0,35 кЕ/л. У 13 (40,6%) пациентов имелся значимый уровень sIgE к моркови. Антитела к минорному аллергену rBet v2 были обнаружены у 4 (12,4%) человек.

После 1-го курса АСИТ у 12 (37,5%) детей наблюдали улучшение состояния: уменьшение степени выраженности симптомов (снижение частоты и длительности проявлений риноконъюнктивального синдрома, уменьшение отечности слизистой оболочки носовых ходов, зуда, гиперемии склер при контакте с аллергеном). У всех пациентов с клиническим улучшением после 1-го курса АСИТ отсутствовали антитела к rBet v2. У 11 (34,4%) детей после 1-го курса терапии отмечено снижение содержания sIgE к аллергенам березы, ольхи, лещины, дуба, а также к rBet v1; у 8 (25%) человек — к аллергенам вишни

($p < 0,01$); у 9 (28,1%) — к аллергенам яблока и персика ($p < 0,01$); у 10 (31,3%) — к аллергенам груши ($p < 0,01$); у 4 (12,5%) — к аллергенам моркови. Изменение концентрации sIgE считалось значимым при ее снижении более чем в 1,2 раза.

После проведения двух курсов АСИТ клинические улучшения состояния пациентов наблюдались у 21 (66,6%) ребенка. Из них у 19 (59,4%) пациентов выявили значимое снижение концентрации sIgE к цельным экстрактам аллергенов пыльцы деревьев, а также к rBet v1 ($p < 0,009$), у 17 (53,1%) — к аллергенам фруктов ($p < 0,009$), у 7 — к аллергенам моркови ($p < 0,01$) по сравнению с исходным уровнем до начала лечения.

Применяя тест Фридмана для оценки эффекта терапии в целом по исследуемой группе, не имеющей sIgE к rBet v2 ($n = 28$), нами было показано, что статистически значимое снижение концентрации антител к пыльцевым и пищевым аллергенам наблюдалось только после проведения двух курсов АСИТ ($p < 0,01$).

Дополнительное тестирование пациентов, у которых не наблюдали положительного эффекта от лечения, показало, что у 4 человек имелись антитела sIgE к минорному аллергену rBet v2, содержание которых превышало пороговое значение. Кроме того, у одного пациента был выявлен диагностически значимый уровень антител к rBet v4, и у двоих — антитела к rBet v6 при отсутствии сенсibilизации к другим минорным аллергенам пыльцы березы. Таким образом, из 11 детей с отсутствием положительного эффекта от проводимой терапии у 7, помимо сенсibilизации к главному аллергену пыльцы березы, имелись диагностически значимые титры антител к минорным аллергенам.

Таким образом, выделяя в самостоятельную группу пациентов с высоким уровнем антител к rBet v2 перед началом АСИТ и оценивая эффективность терапии только у детей без sIgE к rBet v2, получаем, что после

1-го курса АСИТ 42,9% детей имели клинические улучшения состояния и 39,3% — снижение содержания антител к пыльцевым аллергенам. После двух курсов АСИТ эффективность терапии составила 75%, при этом уменьшение концентрации антител было зарегистрировано у 67,9% детей с поллинозом. При учете сенсibilизации к другим минорным аллергенам и оценивая эффективность терапии только среди детей, не имеющих антител к паналлергенам, эффективность терапии составила 84%.

Изменение по группе медианы значений концентрации sIgE к пыльцевым и пищевым аллергенам растительного происхождения в результате проведения АСИТ отражено на рис. 2.

Построение трендовой модели динамики показателей sIgE (пыльцевые, пищевые аллергены и аллергокомпонент rBet v1) до и после АСИТ позволило оценить степень снижения уровня sIgE к пыльцевым и пищевым аллергенам (величина достоверности аппроксимации составила от 0,72 до 0,98). После окончания двух курсов АСИТ уровень sIgE к пыльцевым аллергенам в среднем у пациентов, не имеющих антител к rBet v2, снизился в 1,3–1,6 раза, к аллергенам фруктов — в 1,47–1,85 раза, к аллергенам моркови — в 1,2 раза.

Обсуждение

Для средней полосы России характерна сенсibilизация к пыльце березы, обуславливающая сезонность клинических проявлений и усиление их выраженности в период поллинииции. При этом у большинства больных отмечается множественная сенсibilизация как к пыльцевым, так и к пищевым аллергенам растительного происхождения [5]. В настоящее время оптимизация диагностики развивается по пути появления все большего числа

90

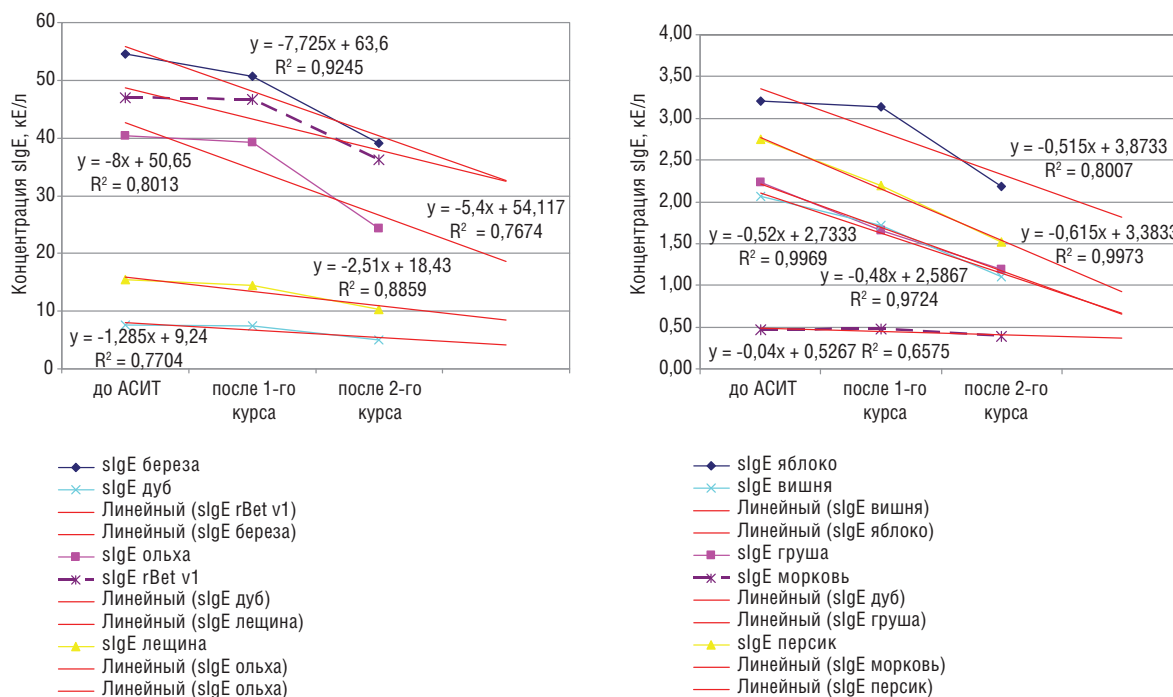


Рис. 2. Трендовая модель динамики показателя sIgE к пыльцевым и пищевым аллергенам растительного происхождения до и после проведения аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

аллергенов, с которыми можно провести исследование, и усовершенствования методов детекции антител sIgE. Вместе с тем проведение развернутого серологического исследования требует наличия высокотехнологичного оборудования, большого объема образца крови пациента, а также имеет высокую стоимость.

Данное исследование позволило установить, что у пациентов с поллинозом, связанным в первую очередь с пылью березы, определяются диагностически значимые уровни sIgE к широкому спектру растительных аллергенов. Обнаруженная зависимость содержания антител к цельным экстрактам аллергенов пыльцы ольхи, лещины, дуба и содержанием к цельному экстракту аллергенов пыльцы березы, а также зависимость между уровнем sIgE к березе или дубу и sIgE к изучаемым пищевым аллергенам позволила оценить степень сенсибилизации к аллергенам родственных березе деревьев и пищевым аллергенам и прогнозировать количественные значения содержания этих антител у пациентов. Вместо проведения тестирования с девятью аллергенами эффективным оказалось определение sIgE к трем основным — березе, дубу, яблоку. Подобный подход позволяет не только решить вопрос об оптимизации диагностического обследования пациентов в условиях отсутствия необходимого оборудования, невозможности взятия большого количества крови, но и снизить стоимость исследования.

Помимо оптимизации стандартной *in vitro* диагностики, заключающейся в определении концентрации sIgE к цельным аллергенным экстрактам, наше исследование продемонстрировало высокую значимость алергокомпонентразделенной диагностики для пациентов, которым планируется проведение АСИТ. В настоящее время ведущим патогенетическим методом лечения пациентов с поллинозом является АСИТ, способная снизить сенсибилизацию организма к причинно-значимым аллергенам и способствовать развитию у пациента толерантности к ним [15]. Однако для ее проведения необходимо точно установить причинно-значимые аллергены, с которыми в последующем будет проводиться терапия. В то же время в цельном экстракте пыльцы растения содержится большое количество различных белков, которые обладают аллергенными свойствами. Выполняя данное исследование, мы выяснили, что изучение распространенности у детей с поллинозом сенсибилизации к минорным аллергенам пыльцы является необходимым шагом диагностики для последующего решения о назначении пациентам АСИТ и прогнозировании ее эффективности. Полученные профили сенсибилизации, в целом соответствующие средней полосе России (преобладание высоких концентраций sIgE к rBet v1 и отсутствие антител к минорным аллергенам rBet v2, rBet v4, rBet v6), тем не менее в ряде случаев были характерны для Средиземноморского региона со значимыми уровнями sIgE к минорным аллергенам. Подобный профиль сенсибилизации у пациента является противопоказанием для проведения ему АСИТ

в связи с отсутствием положительного эффекта от терапии в случае, если содержание аллергенов в экстракте неизвестно.

В ходе выполнения работы нами было также отмечено, что проведение АСИТ с экстрактом пыльцевых аллергенов березы и родственных ей деревьев позволяет снизить содержание антител не только к принимаемым респираторным аллергенам, но и к пищевым аллергенам растительного происхождения, вовлеченным в перекрестные аллергические реакции с березой, в случае если пациент не имеет сенсибилизации к минорным аллергенам. Кроме того, для получения положительного эффекта иммунотерапии следует провести не менее двух курсов АСИТ.

Заключение

У пациентов с поллинозом, обусловленным пылью березы, для прогнозирования содержания sIgE к аллергенам, вызывающим перекрестные реакции (пыльцевым — ольха, лещина; пищевым — груша, персик, вишня, морковь), можно определять уровень антител к ограниченному числу аллергенов (береза-дуб-яблоко). Это является актуальным в случае невозможности проведения дальнейшего серологического исследования (нехватки сыворотки крови пациента, отсутствия необходимого оборудования, высокой стоимости анализа).

Для решения вопроса о назначении АСИТ пациентам с выявленной на первом этапе диагностики поливалентной сенсибилизацией необходимо проведение расширенного обследования для определения антител к минорным аллергенам. При наличии у пациента сенсибилизации только к главному аллергену пыльцы березы — rBet v1 — в 84% случаев ожидается хороший терапевтический эффект АСИТ уже после двух курсов терапии. Однако обнаружение у пациента значимых титров антител sIgE к rBet v 2, а также другим минорным аллергенам на фоне сенсибилизации к главному аллергену березы, является предиктором отсутствия эффекта АСИТ.

Эффект АСИТ зависит от числа проведенных курсов лечения и дает более значимые результаты после многократного повторения по сравнению с однократным. Данный вид терапии поллиноза у пациентов с поливалентной сенсибилизацией позволяет значительно уменьшить образование sIgE к причинно-значимым аллергенам, а также перекрестно реагирующим пищевым аллергенам растительного происхождения.

Конфликт интересов

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения № 14.577.21.0039.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2011. 640 с.
2. Аллергология и иммунология: клинические рекомендации для педиатров. 3-е изд., доп. Под общ. ред. А.А. Баранова, Р.М. Хайтова. М.: Союз педиатров России. 2011. 254 с.
3. Аллергия у детей — от теории к практике. Монография. Серия: «Современная педиатрия: от теории — к практике». Под ред. Л.С. Намазовой-Барановой. М.: Союз педиатров России. 2011. 668 с.
4. Osterballe M., Hansen T.K., Mortz C.G., Host A, Bindslev-Jensen C. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 2005; 16: 567–573.
5. Bartra J., Sastre J., Cuvillo del A., Montoro J., Jáuregui I., Dávila I., Ferrer M., Mullol M., Valero A. From Pollinosis to Digestive Allergy. *Allerg. Clin. Immunol.* 2009; 19 (Suppl. 1): 3–10.

6. Sancho A.I., Wangorsch A., Jensen B.M., Watson A., Alexeev Y., Johnson P.E., Mackie A.R., Neubauer A., Reese G., Ballmer-Weber B., Hoffmann-Sommergruber K., Skov P.S., Vieths S., Mills E.N. Responsiveness of the major birch allergen Bet v 1 scaffold to the gastric environment: impact on structure and allergenic activity. *Mol. Nutr. & Food Res.* 2011; 55 (11): 1690–1699.
7. Ferreira F., Hawranek T., Gruber P., Wöpfner N., Mari A. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allerg. J.* 2004; 59: 243–267.
8. Goikoetxea M.J., Cabrera-Freitag P., Sanz M.L., Fernández-Benítez M. The importance of in vitro component-resolved diagnosis in paediatric patients. *Publ. en Allerg. Imm. (Madr).* 2010; 38: 37–40.
9. Vieths S., Scheurer S., Ballmer-Weber B. Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2002; 964: 47–68.
10. Mahler V., Fischer S., Heiss S., Duchene M., Kraft D., Valenta R. cDna cloning and characterization of a cross-reactive birch pollen allergen: identification as a pectin esterase. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001; 124: 64–66.
11. Moreno-Aguilar C., Improving pollen immunotherapy: minor allergens and panallergens. *Allerg. Imm. (Madrid).* 2008; 36: 26–30.
12. Asero R. Component-resolved diagnosis-assisted prescription of allergen-specific immunotherapy: a practical guide. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 44 (5): 183–187.
13. Gadisseur R., Chapelle J.P., Cavalier E. A new tool in the field of in-vitro diagnosis of allergy: preliminary results in the comparison of ImmunoCAP® 250 with the ImmunoCAP® ISAC. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011; 49 (2): 277–280.
14. Fall B.I., Niessner R. Detection of known allergen-specific IgE antibodies by immunological methods. *Methods Mol. Biol.* 2009; 509: 107–122.
15. Курбачева О.М. Сублингвальная аллергенспецифическая иммунотерапия — метод системного лечения atopических заболеваний. *Росс. алергол. журн.* 2006; 6: 3–9.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Сновская Марина Андреевна, врач отделения инструментальной и лабораторной диагностики КДЦ НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** snows@inbox.ru

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, директор НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** namazova@nczd.ru

Семикина Елена Леонидовна, доктор медицинских наук, заведующая гематологической группой Централизованной клинко-диагностической лаборатории Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** semikinaelena@yandex.ru

Кожевникова Ольга Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением инструментальной и лабораторной диагностики КДЦ НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** fd@nczd.ru