



ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

2'2020

ISSN 2707-1871

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ДУ «ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ім. І. І. МЕЧНИКОВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

ВГО «УКРАЇНСЬКЕ ТОВАРИСТВО ФАХІВЦІВ З ІМУНОЛОГІЇ,
АЛЕРГОЛОГІЇ ТА ІМУНОРЕАБІЛІТАЦІЇ»

ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ МОЗ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

ДРУГИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ФОРУМ

імунологів, алергологів, мікробіологів та
спеціалістів клінічної медицини, присвячений
175-річчю з дня народження І.І. Мечникова
(за участю міжнародних спеціалістів)

16–17 вересня 2020 року
м. Харків





ALEX² АЛЕРГОЛОГІЧНИЙ ПАСПОРТ ПАЦІЄНТА

1 крапля
крові



48 годин
перевірка



на **295** відомих
алергенів

Офіційний представник в Україні
АЛЕКС діагностика
macroarraydx.com.ua
+38 (044) 334 51 03

ALEX²
ALLERGY EXPLORER



ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Виходить 4 рази на рік

2'2020

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Медичні науки:

Бережна Н.М.
Бутенко Г.М. (науковий консультант)
Возіанов С.О.
Волянський А.Ю.
Гольцев А.М.
Драннік Г.Г. (Канада)
Драннік Г.М. (головний редактор)
Дріянська В.Є.
Кайдашев І.П.
Курченко А.І. (заступник головного редактора)
Літус В.І.
Лісяний М.І.
Мінухін В.В.
Порошина Т.В.
Пшенична І.В. (літературний редактор)
Скляр Н.І.
Чернишова Л.І.
Чернишов В.П.
Широбоков В.П.

Біологічні науки:

Базаліцька С.В.
Бичкова Н.Г.
Король Л.В.
Мінченко Ж.Д.
Нікуліна Г.Г.
Руденко А.В.
Савченко В.С.
Сківка Л.М.
Співак М.Я.

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Бажора Ю.І. (Одеса), Борис О.М. (Київ), Вітовська О.П. (Київ),
Господарський І.Я. (Тернопіль), Гриневич Ю.А. (Київ),
Дитятківська Є.М. (Дніпро), Заболотний Д.І. (Київ), Заседа Ю.І.
(Київ), Зайков С.В. (Київ), Коваль Г.Д. (Чернівці), Лоскутова І.В.
(Рубіжне), Мельников О.Ф. (Київ), Недельська С.М. (Запоріжжя),
Нікольський І.С. (Київ), Охотнікова О.М. (Київ), Фещенко Ю.І.
(Київ), Чернюк Н.В. (Івано-Франківськ), Чоп'як В.В. (Львів),
Чумак А.А. (Київ)

ЗАСНОВНИКИ

ДУ «Інститут Урології НАМН України»
Українське товариство фахівців з імунології,
алергології та імунореабілітації

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 15721-4193Р від 08.10.2009 р.

Включено до переліку наукових фахових видань
України, Додаток 8 до наказу Міністерства освіти
і науки України 13.03.2017 № 374.

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ

04053, м. Київ, вул. В. Винниченка, 9А
«ДУ Інститут Урології НАМН України»

info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською, російською або англійською).

За зміст рекламної інформації відповідальність несе рекламодавець.

Матеріали конференції публікуються в авторській редакції. Відповідальність за науковий рівень поданих робіт та достовірність отриманих результатів несуть автори.

Редакційна колегія не завжди поділяє точку зору авторів публікацій.
Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

Рекомендовано до друку Вченою Радою ДУ «Інститут Урології НАМН України»,
протокол №1 від 28.01.2020

Наклад 500 прим.

Здано в набір 17.06.2020. Підписано до друку 22.06.2020.

Формат паперу 64×84 1/8. Гарнітура PragmaticaC. Ум. друк. арк. 12,09. Замовлення № 220620

Зверстано і надруковано в ТОВ «Видавництво «Юстон»

01034, м. Київ, вул. О. Гончара, 36-а т: (044) 360-22-66, www.yuston.com.ua

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія дк № 497 від 09.09.2015 р.



IMMUNOLOGY AND ALLERGOLOGY

SCIENCE AND PRACTICE

PRACTICAL, SCIENTIFIC JOURNAL

Published 4 times a year

2'2020

EDITORIAL COLLEGE

Medical sciences:

Berezhna N.
Butenko G. (scientific consultant)
Chernyshova L.
Chernyshov V.
Drannik A. (Canada)
Drannik G. (Editor in Chief)
Driianska V.
Holtsev A.
Kajdashev I.
Kurchenko A. (Deputy editor)
Lisyani M.
Litus V.
Melnikov O.
Minukhin V.
Volianskyi A.
Vozianov S.
Poroshyna T.
Pshenychna I. (Literary editor)
Shyrobokov V.
Skliar N.

Biological science:

Basalitska S.
Bychkova N.
Korol L.
Minchenko Zh.
Nikulin G.
Rudenko A.
Savchenko V.
Skivka L.
Spivak M.

EDITORIAL COUNCIL

Bazhora Yu. (Odesa), Boris O. (Kyiv), Cherniuk N. (Ivano-Frankivsk),
Chopiak V. (Lviv), Chumak A. (Kyiv), Dytiatkivska Ye. (Dnipro),
Feshchenko Yu. (Kyiv), Hospodarskyi I. (Ternopil),
Hrynevych Yu. (Kyiv), Koval G. (Chernivtsi), Loskutova I. (Rubizhne),
Melnikov O. (Kyiv), Nedielska S. (Zaporizhzhia), Nikolskyi I. (Kyiv),
Okhotnikova O. (Kyiv), Vitovska O. (Kyiv), Zabolotnyi D. (Kyiv),
Zaikov S. (Kyiv), Zaseda Yu. (Kyiv).

FOUNDERS

State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine"
Ukrainian society of immunology, allergology and
immunorehabilitation specialists

State Registration Certificate KB № 15721-4193P dated
08.10.2009.

Included in the list of scientific professional editions of
Ukraine, Annex 8, to the order of the Ministry of Education
and Science of Ukraine dated March 13, 2017, No. 374.

EDITORIAL ADDRESS

04053, Kyiv, V. Vynnychenko str, 9a
Institute of Urology AMS of Ukraine

info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Printed materials in the original language (Ukrainian, Russian or English).
The content of advertising responsibility of the advertiser.

Conference proceedings are published in author's edition. Responsibility for the scientific level of the submitted works and the reliability of the results are the authors.

Editorial board does not always shared the view of the authors of publications.
Reprint articles carried out only with the consent of the publisher.

Recommended for publication by the Academic Council of State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine",
Protocol № 1 dated 28.01.2020

Edition 500 copies

Made up and printed "Publishing house "Uston" Ltd.

01034, Kiev, Gonchara str, 36a; Tel.: (044) 360 2266, e-mail: director.yuston@ukr.net, www.yuston.com.ua

Certificate of making a publishing house subject to publication in the state register of publishers, manufacturers and distributors
of publishing products series dq. No. 497 dated 09.09.2015.

— ЗМІСТ —

КОНСЕНСУСНЫЙ ДОКУМЕНТ WAO-ARIA-GA2LEN С ТОЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ (РАМD@): ПЕРЕСМОТР 2020	4
MALDI МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ – В ОЦЕНКЕ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ Курченко А.И	11
АЛГОРИТМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ Гареев А.Л.	19
ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ЭКСТРАКТА ДИАЛИЗАТА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ Мальцев Д.В.	37
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЭСБЕРИТОКС НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ 2D-ПОЗИТИВНЫХ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК (NKG2D) И ИНТЕРФЕРОНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВОМ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ¹ Курченко А.И., ² Пшеничная И.В.	53
ЗМІНИ ВМІСТУ ІМУННИХ КЛІТИН, ЯКІ МІСТЯТЬ FCR III РЕЦЕПТОР В СЕЛЕЗІНЦІ ТА ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧМТ Лісяний М.І., Паламарьова А.В., Бельська Л.М., Потапова А.Г.	60
АНТИСИНТЕТАЗНИЙ СИНДРОМ З ПОЗИЦІЇ КЛІНІЧНОГО ІМУНОЛОГА Христина Ліщук-Якимович, Валентина Чоп'як, Омелян Синенький, Роман Пукаляк	66
КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА СЕЗОННИЙ АЛЕРГІЧНИЙ РИНОКОН'ЮНКТИВІТ (САРК). АНАМНЕСТИЧНІ ДАНІ ТА СТРУКТУРА СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ Кузнецов О.Г.	72
АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ	82

КОНСЕНСУСНЫЙ ДОКУМЕНТ WAO-ARIA-GA2LEN С ТОЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ (PAMD@): ПЕРЕСМОТР 2020

Ignacio J. Ansotegui^{,1}, GiovanniMelillo^{**,1}, GiorgioWalter Canonicab,^{c***,1}, R. Maximiliano Gómezd, Erika Jensen-Jarolime, Motohiro Ebisawaf, Olga Luengog, Luis Caraballoh, Giovanni Passalacquai, Lars K. Poulsenj, Eleonora Savik, Torsten Zuberbierrl, Elisa Villam and John Oppenheimern – Steering Committee Authors; Riccardo Aseroo, Jonathan Bernsteinp, Jean Bousquetq,r,s,t,u, Victoria Cardonav, Lindo Coxw, Pascal Demolyx, Fatima Ferreiraz, Pedro Giavina Bianchiaa, Sandra Gonzalez Diazab, Thilo Jakobac,ad, Luciana Kase Tannoae,af,ag, Jorg Kleine-Tebbeah, Michael Levinai, Bryan Martinaj, Paolo Maria Matricardiak, Olga Patricia Monge Ortegaal, Mario Morais Almeidaam, Carlos Nunesan, José Antonio Ortega Martellao, Harald Renzap, Nelson Rosário Filhoaq, Philip Rouadiar, Alessia Ruibaas, Hugh Sampsonat, Mario Sánchez Borgesau, Enrico Scalaav, Peter Schmid-Grendelmeieraw, Gian-Enrico Sennaax, Juan Carlos Sisulay, Mimi L. K. Tangaz, Rudolf Valentaba,bb,bc, Marianne van Hagebd,be, Gary W. K. Wongbf and Anahí Yáñezbg – Review Panel Members*

Открытие иммуноглобулина IgE в конце 1960-х годов позволило использовать его как специфический биомаркер для идентификации аллергических заболеваний (АЗ), обусловленных воздействием аллергенов окружающей среды (как правило, белками). В традиционных тестах для определения IgE-антител, таких как кожные прик-тесты (КПТ) и в тестах для определения специфических IgE (slgE) *in vitro*, используют неочищенные экстракты, полученные из источника аллергена, содержащие аллергенные и неаллергенные молекулы. Благодаря применению ДНК-технологий в конце 1980-х годов аллергенные молекулы были описаны и клонированы для определения детерминант различных АЗ [1-4]. Возможность использования аллергенных молекул в последнее десятилетие начала новую фазу диагностики [5], что теперь называется точной молекулярной аллергодиагностикой (PAMD @; precision allergy molecular diagnostic applications) и позволяет улучшить ведение больных с АЗ [6]. Ранее такую диагностику называли компонентной аллергодиагностикой (CRD; component-resolved diagnostics) или молекулярной аллергодиагностикой (MAD; molecular allergy diagnostics). Было опубликовано множество статей, касающихся PAMD@, которые подкрепляют полезность введения этого метода диагностики при ведении пациентов с аллергией [1]. Таким образом, представляется целесообразным обновить консенсусный документ WAO-ARIA-GA2LEN по PAMD@, который был опубликован в 2013 г. [2].

Диагностика *in vitro*

Однокомпонентные и многокомпонентные диагностические системы

Быстро растет и публикуется большое количество исследований, которые сосредоточены на различных аллергенных молекулах и АЗ. Однако поиск дополнительных клинически значимых молекул продолжается, что вызывает необходимость улучшения положительной прогностической ценности аллергологических диагностических тестов. В последние годы ученые и предприниматели участвовали в разработке новых реагентов и диагностических тестов. На сегодня наличие IgE антител к аллергенным молекулам можно выявить с помощью однокомпонентного (единичное определение с одного образца) или многокомпонентного (одномоментное множественное определение с одного образца) методов. При использовании однокомпонентного метода врач, на основе анамнеза болезни пациента, имеет возможность отобрать те аллергенные молекулы, которые необходимы для установления точного диагноза [52]. Многокомпонентный метод позволяет оценить IgE ответ к широкому спектру предварительно отобранных аллергенов, содержащихся на чипе, независимо от клинического анамнеза. В частности, многокомпонентный анализ может быть проведен даже с высушенной каплей крови, которую легко транспортировать [53].

Коммерчески доступны несколько иммунологических твердофазных многокомпонентных

систем: Thermo Fisher ImmunoCAP ISAC, що-держаний 112 алергенів із 51 джерела алергенів [12]; новий ImmunoCAP ISAC 112i, що-держаний 112 компонентів із 48 джерел алергенів, в якому деякі компоненти були видалені (компоненти *Hymenoptera*, *Plat* 2, *Jug r 2*), а інші додані (*Ana o 3*, *Can f 4*, *Can f 6*, *Cor a 14* *Der p 23* і *alpha-Gal*) MADx Allergen Explorer (ALEX, що-держит 282 алергена: 156 екстрактів і 126 компонентів) [54]; мікрополоски Euroline [55]. Велике кількість екстрактів/алергенів із різних класів алергенних джерел надає виснажливу і детальну інформацію про профіль сенсибілізації пацієнта [54, 56]. Крім того, розробляються інші діагностичні інструменти, засновані на визначенні спектра алергенів, які, ймовірно, стануть доступними в найближче час.

Многокомпонентна алергодіагностика особливо підходить для пацієнтів зі складним профілем сенсибілізації або симптомів. Многокомпонентна технологія – це консолідований підхід PAMD@ для покращення діагностики, прогнозу і вибору пацієнтів для алергенспецифічної імунотерапії (АСІТ). Хоча такі діагностичні методи є комерційними продуктами, вони лежали в основі багатьох досліджень. В останні роки з'явилось багато реагентів для однокомпонентних методів, однак багатокомпонентні методи були як об'єктом досліджень, так і розвивались як діагностична галузь, тому для них існує значно більше реагентів, ніж є в наявності для однокомпонентних методів.

Прецизійна (точна, орієнтована на пацієнта) медицина була введена на світовому рівні в 2015 р. за ініціативи тогочасного президента США Барака Обами. До цього персоналізована медицина була швидше мрією, ніж реальністю. Точна або персоналізована медицина – це дисципліна, яка визначає біомаркери певного захворювання у конкретного пацієнта (так називаний ендотип), засновані на особливостях пацієнта, оцінюються в режимі реального часу і можуть впливати на терапевтичний підхід. Очікується, що точна, або персоналізована медицина в найближче час суттєво впливатиме на всі медичні процедури [57], в частині буде сприяти оптимізації вибору пацієнтів і лікувальних процедур, а також розподілу ресурсів і втручання в цілому.

Алергія є прекрасним прикладом застосування точної медицини, оскільки в багатьох випадках пацієнт може бути точно охарактеризований на основі наявних кліні-

чних ознак, діагностичних тестів і біомаркерів. Крім того, багато механізмів, що лежать в основі захворювання, детально відомі, навіть якщо інші ще вивчаються. На сьогоднішній день терапевтична стратегія, заснована на стандартних лікувальних засобах (такі як інгаляційні кортикостероїди, бронхолітики і антигістамінні засоби), суттєво не змінилась, але детальне визначення профілю сенсибілізації дозволило покращити використання АСІТ [58, 59, 60]. В цьому контексті АСІТ залишається етіологічним лікуванням, при умові чіткої стандартизації клінічних ознак і діагностичних процедур, однак PAMD@ дозволяє оптимізувати її застосування і досягти кращих результатів, зменшуючи витрати.

Доступні діагностичні засоби

За останній рік многокомпонентна PAMD@ *in vitro* значно покращилась. Версія ISAC 103 була описана в оригінальному консенсусному заявленні [2], а в 2011 р. була випущена покращена версія ISAC, що-держить 112 компонентів з 51 джерелом алергена. Незважаючи на успіх аналізаторів ISAC, були виявлені деякі несподівані перехресні реакції між його компонентами [64]. Наприклад, *nPhl p 4*, високоглікозилований білок може зв'язуватись з IgE, специфічним до перехреснореагуючих вуглеводних детермінантів (cross-reactive carbohydrate determinants, CCD), і рівень IgE до білка вициліну грецького горіха *nJug r 2* також може бути підвищений у пацієнтів, сенсибілізованих до CCD [64]. Через це слід уважно оцінювати реальну клінічну значимість позитивного результату *nJug r 2* з урахуванням результатів дослідження з іншими компонентами, а також клінічних даних.

Недавно компанією MADx в Вене (Австрія) було розроблено ALEX (Allergen Explorer). ALEX є набором алергенів, нанесених на тверду фазу з допомогою наночастиць. ALEX що-держить 282 реагента (156 екстрактів алергенів і 126 рекомбінантних або високоочищених молекул). (Примітка редакції: на сьогодні в Україні і світі вже доступна модифікація ALEX2®, що-держить 292 алергена і загальний сировоточний IgE; зменшено кількість екстрактів алергенів – 117 (39%), однак збільшено кількість алергенних компонентів – 178 (61%). Таким чином, цей чип відповідає діагностиці другого (представлений екстрактами алергенів) і третього (представлений окремими молекулами) рівнів, а результати ALEX добре співпадають з результатами ISAC [54, 73]. З допомогою цього мікрочипа можна визначати профіль IgE до «цільних»

аллергенам, а также рекомбинантным или очищенным аллергенным белкам. Таким образом, этот анализ имеет две особенности: 1) он может соответствовать стратегии диагностики аллергии «снизу-вверх», когда сначала проводят исследования к отдельным молекулам аллергенов перед исследованиями с экстрактами аллергенов [74]; 2) он обеспечивает расширенный профиль IgE, что соответствует подходам персонализированной медицины [59]. Этот подход требует максимально точного определения фенотипа пациента для установления его эндотипа [75] и обеспечивает формулировку точного диагноза и назначения соответствующего лечения. Учитывая очень большое количество аллергенов и компонентов и значительную сложность интерпретации результатов (по крайней мере, для неспециалиста по молекулярной аллергологии), к ALEX добавляется новая версия экспертной системы Allergenius, которая была первоначально разработана для интерпретации результатов ISAC [74, 76]. Наверное, самой большой ценностью ALEX является наличие ингибитора CCD, который подавляет клинически незначимую перекрестную сенсibilизацию и непосредственно влияет на первичную информацию о сенсibilизации [54].

Пациенты, скорее всего, будут иметь преимущество от PAMD@

Существует общее мнение, что PAMD@ будет полезной для пациентов с полисенсibilизацией. К таковым относятся пациенты с респираторной сенсibilизацией к большому количеству семейств аллергенов, а также пациенты с перекрестными пыльцево-пищевыми и ингаляционно-пищевыми синдромами. Другим показанием для применения PAMD@ является пищевая аллергия и аллергический энтероколит, индуцированный пищевыми белками [84-86], так как на сегодня можно определить индивидуальный профиль IgE-сенсibilизации, анализируя отдельные аллергенные молекулы вместо аллергенных экстрактов.

Аллергены, которые обычно используют для PAMD@, могут быть рекомбинантными или очищенными нативными, а уровень sIgE в сыворотке крови могут выявлять с помощью однокомпонентных или многокомпонентных методов. Чтобы правильно выбрать тест, специалист должен учесть несколько факторов: цель проведения PAMD@ (например, АСИТ респираторных заболеваний, латексная аллергия, пищевая аллергия, перекрестные реакции между пищевыми и ингаляционными аллергенами), сложность клинического случая и наличие средств молекулярной диагностики. Сложные случаи, такие как полисенсibilизация к респираторным и пищевым аллергенам и идиопатическая анафи-

лаксия, изучают преимущественно с помощью многокомпонентных методов [87]. Многокомпонентные исследования, проведенные в начале жизни – в детской категории пациентов, выдаются полезными для прогнозирования риска развития аллергических заболеваний в будущем [88, 89, 90].

Клиницисты должны быть адекватно обучены, знать основные семейства белков-аллергенов и понимать особенности PAMD@. Так, многокомпонентные тесты могут предоставлять сложные результаты, и поэтому врач должен быть осведомлен о результатах, которые могут быть получены в ходе каждого типа анализа. Следует внедрять образовательные программы, как по использованию, так и по интерпретации результатов тестов PAMD@ [76]. Многокомпонентные методы позволяют проводить тестирование более чем 100 молекул одновременно, используя очень малое количество сыворотки, при этом на результаты не влияют высокие уровни общих IgE. Есть основания считать, что в случае необходимости исследования более чем 12 или 13 sIgE многокомпонентных анализов является рентабельнее, чем однокомпонентная диагностика и поэтому является приоритетным [91].

Оценка риска и PAMD@

PAMD@ при определенных обстоятельствах может повысить точность диагностики аллергии [3]. У пациентов с аллергией молекулярный подход уместен для:

- оценки риска возможных аллергических реакций, которые зависят от индивидуального аллергического (клинического) профиля сенсibilизации;
- оценки наличия неизвестных потенциальных факторов (наличие sIgE против аллергенных молекул, коррелирующих с высоким риском аллергических реакций).

Интерпретация тестов PAMD@

Интерпретация тестов PAMD@ может быть сложной даже для опытного аллерголога. Интерпретируя результаты, следует учитывать некоторые важные условия [3].

1. Определение уровней sIgE в сыворотке крови к отдельным аллергенам проявляет сенсibilизацию, а НЕ аллергию.

Выявление sIgE связанного с тучными клетками (КПТ) или определения его уровня в сыворотке крови, выявляет сенсibilизацию – состояние, необходимое, но недостаточное для установления окончательного диагноза IgE-опосредованной аллергии. Для установления причастности сенсibilизирующего агента к развитию симптомов (аллергии) следует тща-

тельно оценивать клинический анамнез и, при необходимости, проводить провокационные пробы. Повышение уровней IgE при отсутствии в анамнезе аллергических симптомов или в случае отрицательных результатов провокационных проб следует считать клинически незначимыми [264].

2. PAMD® и традиционные тесты дополняют друг друга

Анализ IgE к молекулярным компонентам аллергенов следует рассматривать не как альтернативу исследованиям с использованием экстрактов аллергенов, а как дополнение к ним [265]. Интерпретация разногласий между двумя подходами всесторонне рассматривалась в последних публикациях (см. Панель) [121, 122, 266].

Панель. Интерпретация несоответствий между результатами исследований уровней IgE с использованием экстрактов аллергенов и молекул аллергенов

Положительный результат на sIgE с экстрактами аллергена и отрицательный – с его компонентами.

Возможные объяснения:

- sIgE сыворотки крови связываются с молекулами экстракта, которые не были включены в молекулярный анализ;
- sIgE сыворотки крови связываются только с высокоперекрёснореактивными или минорными аллергенными молекулами или детерминантами CCD. В случае подозрения проверьте также наличие компонентов других источников аллергенов, которые могут служить репрезентативными маркерами подозреваемого (перекрёснореагирующего) источника аллергена;
- чувствительность молекулярного анализа аналитически меньше, чем исследования на основе экстрактов аллергенов
- загрязнение из другого источника повлияло на результат (ложноположительный результат).

Положительный результат sIgE к молекулам и отрицательный – с экстрактами соответствующего аллергена

Возможные объяснения:

- sIgE сыворотки крови связываются с исследуемыми молекулами, которые отсутствуют или содержатся в незначительном количестве в экстракте;
- чувствительность исследования с экстрактами аллергенов аналитически меньше, чем молекулярный анализ;
- ошибочная реактивность через целлюлозу ImmunoCAP в реакциях с CCD +.

Когда обнаруживают sIgE к экстракту аллергена, но они отсутствуют к его отдельным молекулам, клиницист должен рассмотреть возможность сенсibilизации к другим молекулярным компонентам аллергена, входящих в экстракт аллергена, однако они не были оценены с помощью данного теста. Также в случаях несоответствия результатов следует учитывать чувствительность методов. Заметьте, что однокомпонентные исследования имеют преимущество по сравнению с многокомпонентными в случае низких уровней общего IgE или уровнях sIgE в сыворотке крови 0,1-1 kU/L [12]. Наличие контаминантов из других источников (например, молекулы HDM в экстрактах собак) также может влиять на надежность результатов теста [267].

В случаях, когда обнаруживают sIgE к экстракту аллергена, но они отсутствуют в его компонентах, следует исключить сенсibilизацию к минорным аллергенам или CCD-детерминантам, отвечающих за перекрёстную сенсibilизацию.

Следует помнить, что не все аллергены данного источника аллергена описаны и доступны для определения sIgE. Перечень важных аллергенных молекул, клонированных или очищенных и введенных для диагностических целей, хотя и быстро увеличивается, остается неполным [74]. Новые значимые аллергенные молекулы, такие как *Der p23* для *D. pteronyssinus* [268] и *Pru p 7* [269] для персика, были обнаружены и стали доступными как диагностические тесты совсем недавно.

И наоборот, когда sIgE не выявляется к экстракту аллергена, но есть сенсibilизация к любой из его отдельных молекул, следует учитывать, что сенсibilизирующие молекулы могут отсутствовать в экстракте или содержаться в незначительном количестве. Иногда эти различия являются количественными; уровень sIgE к экстракту аллергена ниже, чем к отдельным его компонентам, если они содержатся в экстракте в незначительном количестве.

3. Интерпретация результатов на основе источника компонентов аллергена

Хотя рекомбинантные аллергены, экспрессированные в *E. coli*, слабо гликозилированные, природные очищенные аллергены содержат те же углеводы, что и их природные аналоги [270]. Высоко гликозилированные аллергены индуцируют синтез sIgE против углеводного компонента (CCD), который может вызвать перекрёстную реактивность. В ImmunoCAP ISAC в натуральном очищенном виде есть 6 высоко гликозилированных аллергенов: грецкий орех *nJug r 2*, свиной пальчатый *nCyn d 1*, тимофеевка *nPhl p 4*, кедр японский *nCry j 1*, аризонской кипарис *nCup a 1* и платан *nPla l 2* [271]. Невозможно определить, синтезирован ли IgE к белку

этих 6 компонентов, или к углеводной боковой цепи, поэтому важно исключения наличия IgE к CCD, особенно когда не хватает других маркеров для оценки истинной сенсибилизации к этому источнику аллергена [64]. Следует отметить, что маркер CCD MUXF3 в ISAC представляется менее чувствительным, чем тот же тест в ImmunoCAP, и указывает на необходимость поиска лучшего маркера CCD сенсибилизации [76]. Микрочипы ALEX содержат ингибитор CCD для преодоления этой проблемы.

4. Интерпретация на основе местных молекулярных профилей

Профили сенсибилизации различаются в зависимости от географического региона. Знание аллергологом местной молекулярной эпидемиологии имеет важное значение для выбора компонентов для тестирования в соответствующей популяции и правильной интерпретации результатов. Например, *Ole e 1* мог бы быть маркером истинной сенсибилизации к пыльце маслин на юге Испании, но является маркером истинной сенсибилизации к пыльце ясеня на севере Франции. Показано, что изменение человеком местной окружающей среды может изменять профиль сенсибилизации к специфическим аллергенам.

5. Интерпретация неожиданных результатов

Создание широкого профиля IgE-сенсибилизации является одновременно и преимуществом многокомпонентного анализа, и одним из его главных подводных камней, поскольку выявление IgE к неожиданным аллергенам иногда может смутить клинициста, из-за отсутствия соответствующего анамнеза болезни. Это может иметь место в случае аллергии на яд насекомых [273]. Из-за большой распространенности сенсибилизации к яду насекомых, которая наблюдается почти у 15% населения, неспецифический скрининг приведет к появлению множества клинически незначимых результатов и может привести к беспокойству пациентов и их врачей. Пока нет указаний относительно эффективного ведения таких случаев, но представляется целесообразным поступать так же, как и в случае другой клинически незначимой сенсибилизации к пищевым или респираторным аллергенам, выявленных с помощью традиционных методов, таких как КПТ, не требующие вмешательства: вести наблюдение за пациентом, чтобы выявить возможные будущие реакции.

Положительным является то, что выявление бессимптомной сенсибилизации может дать аллергологу исследовать другие виды гиперчувствительности и предупредить пациента о возможных рисках [274]. В случае выявления сенсибилизации к аллергенам, ответственных

за перекрестную аллергию к пыльцевым и пищевым аллергенам, клиницист должен повторно расспросить пациента о наличии симптомов при потреблении продуктов, содержащих эти аллергены, но наличие сенсибилизации как таковой не требует применения элиминационных мероприятий [275]. Элиминационную диету следует рекомендовать только в том случае, если пищевая аллергия вследствие перекрестных реакций подтверждается конкретными данными анамнеза или клинического наблюдения после оральных провокационных проб [41].

6. Определение маркеров низкого или высокого риска и комбинаций компонентов, связанных с различными фенотипами риска

Как правило, аллергены, устойчивые к нагреванию и пищеварению, например, запасные белки семян или LTP, вызывают тяжелые аллергические реакции; их было предложено использовать в качестве маркеров тяжелых реакций. Значимость каждого маркера тяжести меняется в зависимости от местных молекулярных профилей аллергенов. В противоположность этому, гомологи *Bet v 1* и профилины являются лабильными аллергенами, которые обычно индуцируют местные симптомы, такие как оральный аллергический синдром, были предложены для использования их в качестве маркеров легких реакций. Однако клиницист должен знать, что из этого правила могут быть исключения в ситуациях, когда используется большое количество аллергенов, присутствуют кофакторы или в регионах со значительной экспозицией пыльцы. Примером этого являются тяжелые анафилактические реакции у пациентов с моносенсибилизацией к *Bet v 1*-гомологам в случае употребления яблочного сока после физической нагрузки [96] или тяжелые реакции у пациентов с моносенсибилизацией к профилину в районах с избыточной экспозицией пыльцы [97]. Также сообщалось, что пациенты с высоким уровнем IgE к *Bet v 1* часто страдали оральным пищевым синдром [276].

Информационные технологии для поддержки PAMD@

Результаты определения уровней IgE, как с экстрактами, так и с компонентами, можно классифицировать как первичную или перекрестную сенсибилизацию. Некоторые аллергены в основном считаются первичными, тогда как другие рассматриваются преимущественно как паналлергены, которые вызывают перекрестную сенсибилизацию. IgE-сенсибилизация не является синонимом аллергии, и существенно повышенные уровни IgE могут проявляться у лиц без клинических проявлений аллергии. Та-

кая «невинная» сенсibiliзація являється розпространеною. деякі алергени майже завжди клінічно значимі (наприклад, *Ves v 5*), а деякі майже завжди не мають клінічного значення (наприклад, *CCD*), але багато алергенів можуть асоціюватися з високим рівнем IgE з клінічною симптоматикою або без неї. Таким чином, дуже важливо при інтерпретації результатів досліджень з багаточисленними алергенами намагатися розрізнити клінічно значимі та клінічно незначимі перехрестні реактивності.

Багатокомпонентна діагностика з використанням мікрочипів дає можливість проводити оцінку для більш, ніж 100 різних компонентів, належачих до різних джерел інгаляційних та їдких алергенів, алергенів латексу та алергенів яду комах *Hymenoptera*. Кількість позитивних результатів до різних компонентів може бути надзвичайно високою, тому інтерпретація результатів може бути складною. В 112-компонентній версії виробника ImmunoCAP ISAC удосконалили інтерпретацію результатів компонентів з допомогою програмного забезпечення *Xplain*, яке упорядковує компоненти за родинними алергенами та надає відповідну інформацію для інтерпретації результатів. Інший комерційно доступний аналізатор *ALEX* від *MADx*, надає посилання на спеціалізовану експертну систему [76]. Використання інструментів штучного інтелекту дало нові можливості для інтерпретації результатів та ввело нові концепції діагностичного підходу. Насправді, спектри алергенів на мікрочипах надаються в певній ступені надлишковими; наприклад, кількість профілінів та *LTP*, здається більше, ніж необхідно. Однак сенсibiliзація до різних гомологічних компонентів може бути більш показовою відносно клінічно значимої алергії, ніж сенсibiliзації тільки до деяких компонентів. За цим принципом можна використовувати емпіричне правило: якщо позитивні результати виявляють у > 40% компонентів даної родини, пацієнта можна вважати сенсibiliзованим до цієї родини гомологічних молекул. Також експертні системи можуть ідентифікувати первинний сенсibiliзатор в родині гомологічних компонентів, яким виступає компонент з найвищим рівнем IgE. В разі *ALEX* наявність в одному аналізаторі як екстрактів алергенів, так і компонентів алергенів, а також більше кількості доступних алергенів зменшують ризик суперечливості.

Молекулярна діагностика та АСИТ

PAMD@ являється корисним інструментом для диференціювання клінічно значимих і/або первинних сенсibiliзацій від перехрестної сенсibiliзації у пацієнтів з полісенсibiliзацією в разі, коли з допомогою традиційних діагностичних тестів та анамнезу захворювання не вдасться визначити відповідний алерген(и) для проведення АСИТ. АСИТ – це дорожче та трудомістке лікування (3-5 років) та вимагає суворого контролю. Воно передбачає підшкірне або сублінгвальне введення екстракту алергена (алергенів), викликаючих клінічні симптоми; завдяки цьому формується толерантність та зменшується інтенсивність симптомів та потреба в прийомі лікарських засобів після впливу алергена [2, 283, 284]. Толерантність досягається з допомогою складних імунних механізмів з участю як гуморального, так і клітинного імунітету [285-287].

Для призначення АСИТ необхідний точний етіологічний діагноз, і повинен бути точно ідентифікований причинний алерген. Звичайно, для виявлення відповідних алергенів достатньо детального анамнезу захворювання та стандартного тестування на IgE з екстрактами алергенів (КПТ і/або дослідження на *sIgE in vitro*) [267, 288, 289]. Це особливо стосується алергії на пилюку рослин з певними сезонами цвітіння, які не перекриваються, так що симптоми можна легко зв'язати з сезоном. Однак діагностика ускладнюється, коли у пацієнта при проведенні традиційних діагностичних тестів (на основі екстрактів алергена) виявляють полісенсibiliзацію, а анамнез захворювання та історія впливу алергенів не дають можливості чітко визначити відповідний алерген(и). Це може спостерігатися у відносно великій частині пацієнтів [290, 291]. В таких разі в Сполучених Штатах вакцину для АСИТ готують шляхом змішування всіх алергенів, до яких були отримані позитивні результати [292]. Змішування багаточисленних алергенів забезпечує досягнення клінічної ефективності, однак, в разі розвитку побічних явищ стає неможливим виявити причинний алерген [293].

Більшість комерційних екстрактів алергенів, використовуваних для АСИТ, стандартизовані за головними алергенами, але містять незначительну або змінну кількість незначущих алергенів [295, 296]. Успіх АСИТ являється дозозалежним; таким чином, можна передбачити, що терапевтичний успіх визначається концентрацією алергенів, до яких сенсibiliзований пацієнт, і у пацієнта з сенсibiliзацією до незначущих

аллергенам АСИТ может оказаться неэффективной. Необходимы точные методы исследования для установления точного молекулярного состава экстрактов для АСИТ на основе профиля сенсibilизации пациента (персонифицированный подход).

Количество литературных данных, касающихся практической роли PAMD@ в назначении АСИТ, быстро увеличивается; это предусматривали около 10 лет назад [297]. Еще одно интересное и инновационное использование молекулярного анализа – мониторинг АСИТ. Действительно, было замечено [320], что с помощью молекулярной алергодиагностики в ходе АСИТ можно следить за развитием алергенспецифического ответа IgG антител как на алерген, входящий в состав вакцины для АСИТ, так и на перекрестно реактивные алергены. Такое применение метода может быть универ-

сальным инструментом для мониторинга иммунологических эффектов АСИТ, что обеспечит лучший контроль лечения и улучшит понимание положительных и отрицательных терапевтических результатов.

Итак, PAMD@, безусловно, способствует оптимизации назначения АСИТ отдельным пациентам, особенно когда профиль полисенсibilизации, полученный с помощью стандартных диагностических тестов, трудно интерпретировать [312, 324-327].

Реферативный обзор и перевод статьи Ignacio J. Ansotegui et al. «AWAO - ARIA - GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD @): Update 2020» подготовили Евгения Канивец, Анна Артюх.

Полную версию смотрите на сайте: <https://www.worldallergyorganizationjournal.org/>

Стаття надійшла до редакції 15.04.2020р.

MALDI МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ – В ОЦЕНКЕ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

КУРЧЕНКО А.И

Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца

В лабораторной диагностике клинически значимых бактериальных патогенов общепринятыми для клинической практики являются бактериологический, иммунологический и молекулярно-генетический методы. Однако именно масс-спектрометрический метод, активно применяемый в микробиологических исследованиях в пищевой промышленности, ветеринарии, анализе воздуха, воды, почвы и т.д., в настоящее время уверенно начинает занимать перспективные лидирующие позиции в медицинской диагностической практике.

Малди – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI). В основе метода MALDI лежит импульсное лазерное облучение исследуемого вещества, смешанного с матрицей, представляющей собой химическое соединение, чаще всего органическую кислоту. Иначе – это метод «мягкой» ионизации твердого вещества, обусловленной воздействием импульсами лазерного излучения на смесь матрицы с ионизируемым веществом. Времяпролетная MALDI масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS) является новой технологией в клинической диагностике, позволяющей проводить идентификацию микроорганизмов, определять таксономическое положение неизвестных возбудителей. Данный метод включает прямой масс-спектрометрический анализ белковой фракции лизата микробной клетки («прямое белковое профилирование»), предметом которого служат преимущественно рибосомальные белки, являющиеся консервативными в пределах вида микроорганизма. Возможности метода включают анализ белков, пептидов, олигонуклеотидов, жирных кислот и полимеров. Биоинформационная модель для приборов MALDI-TOF MS, основанная на анализе белков, позволяет надежно и точно проводить идентификацию конкретного микроорганизма до вида путем сопоставления получаемых масс-спектров белков с обширными базами данных.

Возможности метода:

1. Микробиология – идентификация микроорганизмов, чувствительность к антибиотикам.

2. Генетика – анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), контроль качества олигонуклеотидов.
3. Анализ структуры синтетических полимеров.
4. Анализ биополимеров или структурных элементов – липидов, полисахаридов, белков, пептидов, антигенов, токсинов, антител.
5. Протеомика – секвенирование белков.
6. Визуализация гистологических образцов.

Преимущества метода:

- самое короткое время и высокоточная идентификация возбудителя по сравнению с другими методами,
- анализ биологических молекул массой до 500 кДа без их разрушения,
- высокая чувствительность (10-12-10-21 моль вещества), толерантность к соледержущим материалам,
- возможность работы с многокомпонентными веществами, возможность получения информации о структуре молекул,
- низкая стоимость,
- высокая производительность,
- логично выстраиваемые критерии оценки микробиоты и ее взаимосвязи с различными болезнями,
- для идентификации микроорганизмов методом масс-спектрометрического анализа не требуется проведение биохимических тестов.

Сравнивая с другими методами спектроскопии – нельзя не отметить приоритет во всех отношениях MALDI-TOF масс-спектрометрии. Преимуществами методов ультрафиолетовой, инфракрасной и Раман-спектроскопии являются: отсутствие процедуры пробоподготовки, что позволяет достичь высокой скорости проведения анализа (до 5 мин.), отсутствие прямого физического контакта исследователя с исследуемым материалом (бесконтактный метод) [31], что особенно важно при исследовании образцов, содержащих или подозрительных на содержание патогенных биологических агентов.

Недостатком индикации биологических частиц методом УФ-спектроскопии является возможность появления ложноположительных результатов из-за присутствия в воздухе аэрозолей, содержащих посторонние вещества и невозможность проведения идентификации микроорганизмов.

Для ИК-спектроскопии невозможна дифференциация биологических и небιологических частиц, при этом Раман-спектроскопия позволяет исследовать только чистую культуру и требует дорогостоящего оборудования. Раман-спектры микроорганизмов зависят от способа подготовки материала [50].

Чувствительность метода MALDI-TOF MS составляет 103-106 м.к./мл [18]. При этом точность микробиологической идентификации зависит от количества исследуемого материала. Специфичность видовой идентификации составляет до 98,6% в среднем [13], время анализа занимает от 6 до 8,5 мин., стоимость анализа методом MALDI TOF составляет 10–32% от себестоимости идентификации традиционными бактериологическими методами [43].

Из истории фактов исследований MALDI-TOF масс-спектрометрии:

A.Cherkaoui *et al.* [17] использовали метод MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации 416 клинических изолятов семейства *Enterobacteriaceae* (216 – *Escherichia coli*, 38 – *Klebsiella pneumoniae*, 35 – *Enterobacter cloacae*, 32 – *Proteus mirabilis*, 24 – *Serratia marcescens*, 19 – *Klebsiella oxytoca*, 12 – *Citobacter koseri*, 12 – *Morganella morganii* и др.). При этом специфичность родовой идентификации была близка к 100%, а сами результаты MALDI-TOF идентификации были подтверждены традиционными биохимическими тестами, при этом проблема несовпадающих результатов разрешалась секвенированием гена 16S ррнк. точность идентификации видов для родов *Enterobacteriaceae* составила 97,7% при анализе 311 изолятов [45].

A.Mellmann *et al.* [35] провели MALDI-TOF MS идентификацию 78 штаммов неферментирую-

щих граммотрицательных микроорганизмов. Все штаммы параллельно были проанализированы секвенированием гена 16S ррнк, использованного в качестве референсного метода. MALDI-TOF масс-спектрометрия идентифицировала 85,9% изолятов, согласующихся с результатами секвенирования, при этом 82,5% изолятов были правильно определены на видовом уровне и 95,2% на уровне рода. S.Q. van Veen *et al.* [48] идентифицировали 88 изолятов неферментирующих бактерий до рода 94,3% и 92% до вида.

A.Cherkaoui *et al.* [17] провели исследование 80 изолятов неферментирующих бактерий методом MALDI. В результате точность измерений составила 100% при родовой и 97,5% при видовой идентификации.

S.Q. van Veen *et al.* [48] провели MALDI-TOF MS исследование грамположительных кокков, предварительно идентифицированных традиционными методами (Vitek-2, API-тест-системы, биохимические тесты). Для подтверждения идентификации, в случае несоответствия результатов, проводилось дополнительно секвенирование гена 16S ррнк. Анализ 261 клинического изолята стафилококков показал 100% результат соответствия на родовом уровне и 94,3% на видовом, а для 165 штаммов стрептококков точность родовой и видовой идентификации составила 98,8 и 84,8% соответственно. Традиционные методы при этом показали 99,2% родовой и 63,2% видовой идентификации стафилококков, для стрептококков эти значения составили 100 и 87,9% соответственно. Для 111 изолятов стафилококков специфичность MALDI-TOF родовой идентификации составила 100 и 98,2% видовой, а для 87 изолятов стрептококков – 100 и 73,6% соответственно [17].

L.G.Harris *et al.*[25] идентифицировали 158 изолятов стафилококков со 100% точностью на уровне рода и вида. A.Cherkaoui *et al.* [17] применили метод масспектрометрического анализа при идентификации анаэробных бактерий. При 100% определении рода, процент видовой идентификации для анаэробов составил от 17 до 57%.

Пример MALDI Biotyper

Идентификация смеси микроорганизмов

▷ ●	1847-1	F4	F4	Sepsityper	Klebsiella pneumoniae	2.49
▷ ●	1847-2	F5	F5	Sepsityper	▲▲ Bacillus cereus + Bacillus mycoides	2.33
▷ ●	2887-1	F6	F6	Sepsityper	Pseudomonas stutzeri	2.30
▷ ●	2887-2	F7	F7	Sepsityper	Pseudomonas luteola	2.26
▷ ●	2887-3	F8	F8	Sepsityper	▲▲ Pantoea septica + Xenorhabdus ehlersii	2.52
▷ ●	1842-1	F9	F9	Sepsityper	Pseudomonas aeruginosa	2.25

▲▲ Acinetobacter baumannii + Acinetobacter pittii
Acinetobacter baumannii
▲▲ Enterococcus faecalis + Microbacterium liquefaciens

Пример результатов – MALDI Biotyper

Название пробы	Идентификатор пробы	Микроорганизм (наилучшее совпадение)	Численная оценка	Микроорганизм (второе наилучшее совпадение)	Численная оценка
A8 (+++)(A)	1838 (стандарт)	Streptococcus oralis	2.46	Streptococcus oralis	2.32
A9 (+++)(A)	1784-1 (стандарт)	Enterococcus faecium	2.51	Enterococcus faecium	2.50
A10 (+++)(A)	1784-2 (стандарт)	Enterococcus faecium	2.55	Enterococcus faecium	2.44
A11 (+++)(A)	1855-1 (стандарт)	Klebsiella pneumoniae	2.33	Klebsiella pneumoniae	2.28
A12 (+++)(A)	1855-2 (стандарт)	Acinetobacter baumannii	2.45	Acinetobacter baumannii	2.37
B8 (+++)(A)	1861-1 (стандарт)	Candida albicans	2.12	Candida albicans	1.92
B9 (+)(B)	1861-2 (стандарт)	Candida glabrata	1.84	Candida glabrata	1.78

Вид отчета (10 штаммов)

Analyte1

Analyte Name: Probe A
 Analyte Description: measured at A1
 Analyte ID: BTS
 Analyte Creation Date/Time: 2008-12-08 14:14:55.802
 Applied MSP Library(ies): IVD
 Applied Taxonomy Tree:

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Escherichia coli ATCC 25922_THL	2.454	562
2 (++)	Escherichia coli MB11464-1_CHB	2.249	562
3 (++)	Escherichia coli Nissl VML	2.238	562
4 (++)	Escherichia coli DH5alpha BRL	2.19	562
5 (++)	Escherichia coli DSM 30083_HAM	2.152	562
6 (++)	Escherichia coli ATCC 25922_CHB	2.124	562
7 (++)	Escherichia coli ESBL EA RSS 1528T_CHB	2.035	562
8 (+)	Escherichia fergusonii DSM 13698_HAM	1.967	564
9 (+)	Escherichia coli ATCC 35218_CHB	1.955	562
10 (+)	Escherichia coli W3350_MMG	1.905	562

Трудности лабораторной внутривидовой и внутривидовой дифференциации бактерий связаны с наличием общих биохимических свойств, морфологических, тинкториальных характеристик, присутствием родоспецифических и перекрестно реагирующих антигенов.

Правильная идентификация является необходимой для дифференциации непатогенных видов рода *Yersinia* от патогенных видов: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*. *S. Ayyadurai et al.* [12] составили базу данных референтных масс-спектров 39 различных штаммов *Yersinia*,

представляючих 12 різних видів *Yersinia*, включаючи 13 штамів *Y. Pestis* біоварів *Antiqua*, *Medievalis* і *Orientalis*. Отримані мас-спектри природних і клінічних ізолятів *Y. pestis* (n=2) і *Y. enterocolitica* (n=11) були сопоставлені з референтними мас-спектрами бази даних мас-спектрометра і визначені коректно. Таким образом, *Y. pestis* була однозначно ідентифікована на видовому рівні, а MALDI-TOF була успішно применена для дифференціації трьох біотипів. P.Lasch et al. [32] склали базу даних мас-спектрів 374 штамів роду *Bacillus*, серед яких 102 штам *B. anthracis* і 121 штам *B. cereus*.

V.Ryzhov et al. [39] провели MALDI-TOF мас-спектрометричний аналіз 14 мікроорганізмів групи *Bacillus cereus*. Отримані мас-спектри показали велике сходинство між видами *B. anthracis*, *B. cereus* і *B. thuringiensis*, так як містили загальні для даних видів біомаркери, які відсутні у *B. mycoides*.

L.Ferreira et al. [20] провели MALDI-TOF MS дослідження 131 клінічного ізоляту роду *Brucella*, включаючи види *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, попередньо ідентифікованих традиційними методами і ПЦР. Точність родової ідентифікації склали 100%, а видової – 20,6%. F.Lista et al. [34] визначили з точністю 99,3% видову належність 152 ізолятів роду *Brucella*, при цьому *B. suis* біоварів 1 і 2 були ідентифіковані до рівня біовара.

T.Hazen et al. [26] показали можливість застосування методу MALDI-TOF MS для дифференціації виду *V. parahaemolyticus* від інших видів роду *Vibrio* (*V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. harveyi*, *V. fischeri*, *V. campbellii*, *V. fluvialis*, *V. mediterranei*) і визначення біомаркерних піків, специфічних для *V. parahaemolyticus*.

Поміж дослідження цільних клітинних лізатів, MALDI мас-спектрометрія використовується для аналізу окремих біологічних молекул (нуклеинових кислот, білків, ліпідів, полісахаридів, жирних кислот), які мають діагностичне і/або патогенетичне значення, і представляє альтернативу традиційним хроматографічним методам їх визначення.

Так, F.Kirrekar et al. [29] провели MALDI секвенування цих фрагментів ДНК, які не могли

бути секвенувані традиційними методами из-за наявності численних неспецифічних кінцевих продуктів, природа яких може бути визначена з допомогою MALDI-TOF-MS.

E.Nordhoff et al. [37] розробили протокол для швидкого секвенування з використанням MALDI-TOF-MS коротких послідовностей ДНК, які складаються з 15–20 п.н., заснований на концепції сэнгера. Продукти секвенування розділялись і виявлялись методом MALDI-TOF-MS, а послідовність визначалась шляхом порівняння виміряних молекулярних мас з очікуваними значеннями.

B.Schilling et al. [41] застосували метод вакуумної MALDI мас-спектрометрії (vMALDI) для отримання мас-спектрів і визначення структури ліпідів, а трьох видів роду *Francisella* (*F. tularensis*, *F. novicida* і *F. philomiragia*). A.Silipo et al. [45] провели MALDI аналіз вторинної структури жирних кислот, які входять до складу ліпідів, а для видів *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. reactans* і *B. caryophylli*. J.Gidden et al. [23] здійснили MALDI-TOF мас-спектрометричний аналіз ліпідів *E. coli* і *B. subtilis*. S.M.A.B. Batoy et al. [15] з допомогою MALDI мас-спектрометрії з перетворенням Фур'є і отримали ліпідні і фосфоліпідні профілі генетично модифікованих дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Показана ефективність застосування MALDI-MS для ідентифікації бактеріальних токсинів, таких як ботулінічний нейротоксин, столбнячний токсин, стафілококковий ентеротоксин. Розроблено мас-спектрометричний метод на основі MALDI, який дозволяє визначати ендопептидазну активність ботулінічних токсинів різних серотипів в клінічних зразках [22, 28]. S.J.Shields et al. [44] методом MALDI-TOFMS охарактеризували с-фрагмент столбнячного токсину і його комплексів з дексорибуцином. Описано підходи до ідентифікації ентеротоксину В методом MALDI-TOF в різних середовищах [16, 36, 42, 47]. Метод MALDI-TOF MS використовувався для виявлення цитотоксину K1 (CytK1) і негемолітичного ентеротоксину (NHE), продуцируваних патогенними штамми групи *B. cereus* [46], а також дельта-токсину *S. Aureus* [21] і шига-токсину *E. coli* O157 [19].

Состав базы данных MALDI Biotyper

	MSP	Род	Вид
Грам -	3525	258	1266
Грам +	4070	210	1450
Дрожжи	806	45	210
Миц. грибы	67	27	43
Всего	8468	540	2969

Внедрение масс-спектрометрического анализа в практику медицинских лабораторий позволит проводить быструю идентификацию более 2400 видов микроорганизмов, в том числе не установленной этиологии и атипичных форм.

Таким образом, метод масс-спектрометрического анализа является современным высокоточным инструментом идентификации и дифференциации микроорганизмов, позволяющим повысить эффективность лабораторной диагностики не только инфекционных болезней, но и микробиоты в целом, что важно при ряде соматических заболеваний [22, 28].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ:

- Vladimirov Yu.A., Litvin F.F. [Photobiology and Spectral Methods of Investigation. Workshop on General Physics]. Issue 8. M.; 1964. 211 p.
- Gridneva L.G., Musatov Yu.S., Gromova T.V., Pukhovskaya N.M., Belozerova N.B., Utkina O.M., Ivanov L.I., Koval'sky A.G., Mironova L.V., Kulikalova E.S., Khunkheeva Zh.Yu., Balakhonov S.V. [Results of monitoring over and biological properties of *Vibrio cholerae* isolated from ambient environment objects in the Khabarovsk Territory]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 1:121–4.
- Dubrovsky Ya.A., Podol'skaya E.P. [Detection of peptide toxins using MALDI-MS (Review Article)]. *Nauchnoe Priborostroenie.* 2010; 20(4):21–35.
- Karnaukhova L.I., Tupitsyn E.N. [UV-spectroscopy of biological macromolecules. Study Guide]. Saratov; 2002. 15 p.
- Merzlyak M.N., Chivkunova O.B., Maslova I.P., Nakvi R.K., Solovchenko A.E., Klyachko-Gurvich G.L. [Light adsorption and light scattering spectra in cell suspensions of some cyanobacteria and microalgae]. *Fiziologiya Rastenii.* 2008; 55(3):464–70.
- Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. M.; 2009. 472 p.
- Onishchenko G.G., editor [Guidelines on Specific Indication of Pathogenic Biological Agents]. M.: ZAO "MP Gigiena"; 2006. 288 p.
- [Chemist's Desk Reference. Vol. 4. Analytical Chemistry. Spectral Analysis. Refraction Index]. L.: Khimiya; 1967.
- [Modern Methods of Microbiological investigations. Study Guide for Higher Education Institutions]. Voronezh; 2007. 69 p.
- Utkin D.V., Kouklev V.E., Erokhin P.S., Ossina N.A. [Application of spectroscopy methods for indication and identification of pathogenic biological agents]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 2(108):68–71.
- Shmidt V. [Optic Spectroscopy for Chemists and Biologists]. M.: Tekhnosfera; 2007. 368 p.
- Ayyadurai S., Flaudrops C., Raoult D., Drancourt M. Rapid identification and typing of *Yersinia pestis* and other *Yersinia* species by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-light (MALDI-TOF) mass spectrometry. *BMC Microbiol.* 2010; 10:285.
- Bader O., Weig M., Taverne-Ghadwal L., Lugert R., Cross U., Kuhns M. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17:1359–65.
- Baena J.R., Lendl B. Raman spectroscopy in chemical bioanalysis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2004; 8:534–9.
- Batoy S.M.A.B., Borgmann S., Flick K., Griffith J., Jones J.J., Saraswathi V., Hasty A.H., Kaiser P., Wilkins C.L. Lipid and Phospholipid Profiling of Biological Samples Using MALDI Fourier Transform Mass Spectrometry. *Lipids.* 2009; 44(4):367–71.
- Bernardo K., Pakulat N., Fler S., Schnaith A., Utermöhlen O., Krut O., Müller S., Krönke M. Subinhibitory concentrations of linezolid reduce *Staphylococcus aureus* virulence factor expression. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(2):546–55.
- Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Methods with Conventional Phenotypic Identification for Routine Identification of Bacteria to the Species Level. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1169–75.
- Croxatto A., Prod'hom G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011; 36:380–407.
- Fagerquist C.K., Sultan O. Top-Down Proteomic Identification of Furin-Cleaved α -Subunit of Shiga Toxin 2 from *Escherichia coli* O157:H7 Using MALDI-TOF-TOF-MS/MS. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010; 2010:123460.
- Ferreira L., Vega Castaño S.V., Sánchez-Juanes F., González-Cabrero S., Menegotto F., Orduña-Domingo A., González-Buitrago J.M., Muñoz-Bellido J.L. Identification of *Brucella* by MALDI-TOF Mass Spectrometry. Fast and Reliable Identification from Agar Plates and Blood Cultures. *PLoS One.* 2010; 5(12):14235.
- Gagnaire J., Dauwalder O., Boisset S., Chau D., Freydisse A.-M., Ader F., Bes M., Lina

- G., Tristan A., Reverdy M.-E., Marchand A., Geissmann T., Benito Y., Durand G., Charrier J.-P., Etienne J., Welker M., van Belkum A., Vandenesch F. Detection of *Staphylococcus aureus* Delta-Toxin Production by Whole-Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry. *PLoS One*. 2012; 7(7):40660.
22. Gaunt P.S., Kalb S.R., Barr J.R. Detection of botulinum type E toxin in channel catfish with visceral toxicosis syndrome using catfish bioassay and endopep mass spectrometry. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2007; 19:349–54.
 23. Giddeen J., Denson J., Liyanage R., Ivey D.M., Lay J.O. Lipid Compositions in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* During Growth as Determined by MALDI-TOF and TOF/TOF Mass Spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 2009; 283(1–3):178–84.
 24. Gomes-Solecki M.J.C., Savitt A.G., Rowehl R., Glass J.D., Bliska J.B., Dattwyler R.J. LcrV Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Yersinia pestis* from Human Samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2005; 12:339–46.
 25. Harris L.G., El-Bouri K., Johnston S., Rees E., Frommelt L., Siemssen N., Christner M., Davies A.P., Rohde H., Macj D. Rapid identification of staphylococci from prosthetic joint infections using MALDI-TOF mass-spectrometry. *Int. J. Artif. Organs.* 2010; 33(9):568–74.
 26. Hazen H.T., Martinez J.R., Chen Y., Lafon P.C., Garrett N.M., Parsons M.B., Bopp C.A., Sullards M.C., Sobecky P.A. Rapid Identification of *Vibrio parahaemolyticus* by Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *App. And Env. Microbiol.* 2009; 75(21):6745–56.
 27. Jiang J., Parker C., Fuller J., Kawula T., Borchers C. An immunoaffinity tandem mass spectrometry (iMALDI) assay for detection of *Francisella tularensis*. *Anal. Chim. Acta.* 2007; 605(1):70–9.
 28. Kalb S.R., Moyra H., Boyer A.E., McWilliams L.G., Pirkle J.L., Barr J.R. The use of Endopep-MS for the detection of botulinum neurotoxins A, B, E, and F in serum and stool samples. *Anal. Biochem.* 2006; 351(1):84–92.
 29. Kirpekar F., Nordhoff E., Larsen L.K., Kristiansen K., Roepstorff P., Hillenkamp F. DNA sequence analysis by MALDI mass spectrometry. *Nucleic Acids Research.* 1998; 26(11):2554–9.
 30. Kull S., Pauly D., Sturmman B., Kirchner S., Stämmler M., Dorner M.B., Lasch P., Naumann D., Dorner B.G. Multiplex detection of microbial and plant toxins by immunoaffinity enrichment and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2010; 82(7):2916–24.
 31. Lambert P.J., Whitman A.G., Dyson O.F., Akula S.M. Raman spectroscopy: the gateway into tomorrow's virology. *Virology.* 2006; 3:51.
 32. Lasch P., Beyer W., Nattermann H., Stämmler M., Siegbrecht E., Grunow R., Naumann D. Identification of *Bacillus anthracis* by Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Light Mass Spectrometry and Artificial Neural Networks. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009; 75(22):7229.
 33. Lim D., Simpson J., Kearns E., Kramer M. Current and Developing technologies for monitoring agents of bioterrorism and biowarfare. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005; 18(4):583–607.
 34. Lista F., Reubsæet F., De Santis R., Parchen R., de Jong A., Kieboom J., van der Laaken A., Voskamp-Visser I., Fillo S., Jansen H.-J., van der Plas J., Paauw A. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiology.* 2011; 11:267.
 35. Mellmann A., Cloud J., Maier T., Keckevoet U., Ramminger I., Iwen P., Dunn J., Hall G., Wilson D., LaSala P., Kostrzewa M., Harmsen D. Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry in Comparison to 16S rRNA Gene Sequencing for Species Identification of Nonfermenting Bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(6):1946–54.
 36. Nedelkov D., Nelson R.W. Detection of Staphylococcal Enterotoxin B via biomolecular interaction analysis mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69(9):5212–5.
 37. Nordhoff E., Luebbert C., Thiele G., Haiser V., Lehrach H. Rapid determination of short DNA sequences by the use of MALDI-MS. *Nucleic Acids Research.* 2000; 28(20):86.
 38. Peruski A.H., Peruski L.F.Jr. Immunological Methods for Detection and Identification of Infectious Disease and Biological Warfare Agents. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003; 10(4):506–13.
 39. Ryzhov V., Hathout Y., Fenselau C. Rapid Characterization of Spores of *Bacillus cereus* Group Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Appl. And Env. Microbiol.* 2000; 66(9):3828–34.
 40. Seibold E., Maier T., Kostrzewa M., Zeman E., Splettstoesser W. Identification of *Francisella tularensis* by Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Light Mass Spectrometry: Fast, Reliable, Robust,

- and Cost-Effective Differentiation on Species and Subspecies Levels. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1061.
41. Schilling B., McLendon M., Phillips N., Apicella M., Gibson B. Characterization of Lipid A Acylation Patterns in *Francisella tularensis*, *F. novicida* and *F. philomiragia* using Multiple-Stage Mass Spectrometry (MSn) on a vMALDI Linear Ion Trap. *Anal. Chem.* 2007; 79(3):1034–42.
 42. Schlosser G., Kačer P., Kuzma M., Szilágyi Z., Sorrentino A., Manzo C., Pizzano R., Malorni L., Pocsfalvi G. Coupling immunomagnetic separation on magnetic beads with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for detection of staphylococcal Enterotoxin B. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73(21):6945–52.
 43. Seng P., Drancourt M., Gouriet F., La Scola B., Fournier P.E., Rolain J.M., Raoult G. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49:543–51.
 44. Shields S.J., Oyeyemi O., Lighthorn F.C., Balhorn R. Mass spectrometry and non-covalent protein-ligand complexes: confirmation of binding sites and changes in tertiary structure. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2003; 14(5):460–70.
 45. Silipo A., Lanzetta R., Amoresano A., Parrilli M., Molinaro A. Ammonium hydroxide hydrolysis: a valuable support in the MALDI-TOF mass spectrometry analysis of Lipid A fatty acid distribution. *J. Lipid Res.* 2002; 43(12):2188–95.
 46. Tsilia V., Devreese B., de Baenst I., Mesuere B., Rajkovich A., Uyttendaele M., van de Vlede T., Heyndrickx M. Application of MALDI-TOF mass spectrometry for the detection of enterotoxins produced by pathogenic strains of the *Bacillus cereus* group. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012; 404(6–7):1691–702.
 47. Usuki S., Pajaniappan M., Thompson S.A., Yu R.K. Chemical validation of molecular mimicry: interaction of cholera toxin with *Campylobacter lipooligosaccharides*. *Glycoconj. J.* 2007; 24(2–3):167–80.
 48. van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper Ed J. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(3):900–7.
 49. Zhang X., Yonzon C.R., van Duyne R.P. An electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy approach to anthrax detection. *Proc. SPIE.* 2003; 5221:82–91.
 50. Zourob M., Elwary S., Turner A. *Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems.* Springer; 2008. 970 p.

РЕЗЮМЕ

MALDI МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ – В ОЦЕНКЕ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Курченко А.И.

Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца

Масс-спектрометрия является современным физико-химическим методом анализа, позволяющим проводить качественный и количественный анализ состава вещества, основанный на предварительной ионизации входящих в его состав атомов или молекул. Одним из новых методов ионизации, благодаря которому масс-спектрометрическое исследование макромолекул получило широкое распространение, является матрично активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI), представляющая собой импульсное лазерное облучение исследуемого вещества, смешанного с матрицей.

В статье представлены современные данные о применении метода MALDI масс-спектрометрии для проведения родо- и видоспецифической идентификации микроорганизмов в практике диагностических лабораторий. Рассмотрены преимущества MALDI-TOF идентификации по сравнению с другими методами исследования микробиоты. Обозначено место масс-спектрометрии в системе лабораторной диагностики различных патогенов.

Ключевые слова: микробиота, MALDI масс-спектрометрия, лабораторная диагностика.

РЕЗЮМЕ

MALDI МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ - В ОЦІНКІ МІКРОБІОТИ ЛЮДИНИ. СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ

Курченко А.І.

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольца

Мас-спектрометрія є сучасним фізико-хімічним методом аналізу, що дозволяє проводити якісний і кількісний аналіз складу речовини, заснований на попередній іонізації атомів або молекул, які входять до її складу. Одним з нових методів іонізації, завдяки якому мас-спектрометричні дослідження макромолекул набуло широкого поширення, є матрично активована лазерна десорбція/іонізація (MALDI), що представляє собою імпульсно-лазерне опромінення досліджуваної речовини, змішані з матрицею.

У статті представлені сучасні дані про застосування методу MALDI мас-спектрометрії для проведення родо- і видоспецифічної ідентифікації мікроорганізмів в практиці діагностичних лабораторій. Розглянуто

переваги MALDI-TOF ідентифікації в порівнянні з іншими методами дослідження мікробіоти. Позначено місце мас-спектрометрії в системі лабораторної діагностики різних патогенів.

Ключові слова: мікробіота, MALDI мас-спектрометрія, лабораторна діагностика.

SUMMARY

MALDI MASS SPECTROMETRY - IN THE ASSESSMENT OF HUMAN MICROBIOTA. CURRENT STATE AND PERSPECTIVES

Kurchenko A.I.

National Medical University named after O.O. Bogomolets

Mass spectrometry is a modern physicochemical method of analysis that allows for a qualitative and quantitative analysis of the composition of a substance

based on the preliminary ionization of its constituent atoms or molecules. One of the new methods of ionization, thanks to which the mass spectrometric study of macromolecules has become widespread, is matrix-activated laser desorption / ionization (MALDI), which is a pulsed laser irradiation of the substance under study mixed with a matrix.

The article presents modern data on the use of the MALDI mass- spectrometry method for conducting genus and species-specific identification of microorganisms in the practice of diagnostic laboratories. The advantages of MALDI-TOF identification in comparison with other methods of microbiota research are considered. The place of mass spectrometry in the system of laboratory diagnostics of various pathogens is indicated.

Key words: microbiota, MALDI mass spectrometry, laboratory diagnostics

АВТОРСЬКА ДОВІДКА:

• **Курченко А.І.,**

д.мед.н., проф., завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики Національний медичний університет імені О. О. Богомольця.

01053, Україна, м Київ,
бульвар Т. Шевченка, 17
тел. : +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

• **Курченко А.И.,**

д.мед.н., проф., заведующий кафедрой клинической иммунологии и алергологии с секцией медицинской генетики Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца.

01053, Украина, г. Киев,
Бульвар Т. Шевченко, 17
тел.: +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

• **Kurchenko A.I.**

MD, Prof., Head of the Department of Department of Clinical Immunology and Allergists with a Section of Medical Genetics O.O. Bogomolets National Medical University.

01053, Ukraine, Kyiv,
T. Shevchenko Boulevard, 17
tel. : +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

Стаття надійшла до редакції 20.04.2020р.

АЛГОРИТМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ*ГАРЕЕВ А.Л.*

«Производственная фирма Симеста»

Вступление

Развитие лабораторного дела напрямую связано с тенденциями в клинической практике любой медицинской дисциплины. Аллергология не исключение. Будучи дополнительным инструментом, используя который, можно подтвердить, уточнить, несколько изменить понимание врача о природе патологического состояния пациента, ибо только клиническое течение заболевания может быть основой результативной диагностики. Это не ново, но живо. Врач клиницист в силу своей квалификации формирует заказ, ставит задачу перед лабораторией о проведении исследований с тем информационным содержанием, которое для клинициста необходимо. Заложенные в 1906 году Клементсом Перке принципы классической аллергологии на протяжении 20-го века развивались. В этой работе принимали участие отечественные и зарубежные исследователи. [1-5]

Эти принципы сохраняют свою актуальность до сегодняшнего дня. В представлениях об этиологии и патогенезе аллергологического заболевания неизменным остается факт того, что безвредное вещество внешней среды в прошлом, никак не вызывающее патологическую реакцию при контакте с макроорганизмом, в настоящем такую реакцию вызывает. И второе обстоятельство – свидетельство того, что одно и то же вещество у одного макроорганизма реакцию не вызывает, а у другого в тот же момент времени – вызывает. Вывод, который очень естественен – защитные механизмы, будучи эффективными ранее, перестают быть таковыми. Роль такого барьера отводится иммунной системе. Значит, здоровая ранее иммунная система заболевает, что проявляется в гиперчувствительности. Аллергия – это болезнь иммунной системы, которая подлежит лечению. Из этого исходил сто лет назад Перке, этим руководствуются современные аллергологи.

Не сомневаясь в том, что в окружающей человека сфере находятся вещества с повышенной аллергенностью, была развернута работа по исследованию свойства тысяч веществ внешней среды с оценкой степени аллергенности. Был достигнут прогресс в количественном определении характеристик, которые отличают аллергены от неаллергенов. Полученная инфор-

мация легла в основу Структурной базы данных аллергенных белков (SDAP, <http://fermi.utmb.edu/SDAP/>). SDAP содержит характеристики более чем 800 аллергенов, включая название, групповую принадлежность, структуру белка, значимые эпитопы и ссылки на дополнительные электронные и печатные источники (PubMed, MEDLINE). [6-8]

Представление о том, что аллергия является заболеванием иммунной системы, сформировала направления в изучении патогенетических механизмов такого процесса. Были определены сложнейшие взаимосвязи иммунокомпетентных клеток и гуморальных факторов, определяющих тяжесть клинических проявлений аллергологического заболевания у конкретного пациента. [9]

Сложившаяся практика лабораторных исследований в зависимости от поставленных задач врачом-клиницистом

Сенсибилизация к целостным экстрактам аллергенов является пусковым элементом патологического процесса. Такое представление о патогенезе аллергии определяет востребованность лабораторных исследований, маркерами в которых являются экстракты аллергенов с тенденцией расширить перечень аллергенов в тесте максимально, от признанных аллергенами цитрусовые, ракообразные, латекс и т.д. до экзотических, таких как корм для аквариумных рыбок. Информативность таких тестов дает возможность врачу клиницисту делать однозначный вывод об этиологии заболевания пациента и назначать лечение, исходя из перечня выявленных сенсибилизирующих аллергенов. Тесты, скомпонованные исключительно маркерами экстрактов аллергенов, востребованы врачами клиницистами, что делает необходимым иметь их в арсенале лаборатории.

Несколько десятилетий назад развитие теории привело к формированию понятия молекулярной аллергологии. Была определена компонентная структура аллергена. Представления о целостности, однородности, монолитности аллергена претерпели изменения. Были выявлены отдельные белки – компоненты экстракта, которые отвечают за специфическую сенсибилизацию у больного аллергологическим заболеванием. Трендом молекулярной аллерго-

гии является представление о сенсibilизации к мажорным алергенам, которая является истинной. [10]

Такое понимание отражается на формировании лабораторных услуг, которые сводятся к работе с мажорными и минорными алергенами. Перечень известных на сегодня мажоров и миноров достаточно ограничен, что определяет компоновку относительно небольшого числа тестов. Врач алерголог заинтересован получить информацию о сенсibilизации к мажорному алергену, что определит тактику лечения больного. Лабораторное подтверждение такой сенсibilизации дает основания назначить АСИТ, Сенсibilизация к минору ограничивает врача приемами симптоматического лечения. [11]

Проявленной реактивности к даже одному мажору воспринимается врачом исчерпывающим, необходимость проводить дополнительные лабораторные исследования не наступает.

Но взаимоотношения клинициста с лаборантом могут формироваться не только в одностороннем порядке, где заказчиком выступает клиницист, а лаборант выполняет востребованное исследование. Алергология развивается стремительно и не всегда действующие врачи алергологи имеют информацию о новых тенденциях. Производственная фирма Симеста разработала линейку алергологических тестов, компоновка которых отлична от принятых схем.

Были оценены сложившиеся основные направления в лабораторной алергологии. Эти направления описываются как движение "top-down" сверху вниз и противоположное – "bottom-up" движение снизу вверх. [12]

Первое из них предполагает, что врач алерголог оценивает всю сумму клинических проявлений и, основываясь на выявленных симптомах, назначает целенаправленно для подтверждения предполагаемого диагноза тесты с выборочным перечнем маркеров. Тесты, дающие возможность собрать в одно исследование под конкретного больного нужную только ему комбинацию маркеров и количественно, и с учетом их специфических характеристик, доступны, присутствуют на рынке лабораторных услуг. Это реализуемо в силу максимально длинной линейки алергологических как экстрактивных, так и молекулярных маркеров у производителя тестов в таком формате. [13]

Однако, эти возможности искусственно ограничиваются запросами клиницистов-алергологов, сконцентрировавших свое внимание исключительно на исследованиях мажорных и минорных алергенов, выводя за рамки оценки сенсibilизацию к не вошедшим в это число алергенам. Сенсibilизация к остальным не оценивается, не востребована в лабораторной практике.

Формат тестов «движение снизу вверх» также присутствует на рынке лабораторных услуг. Это мультиплексные тесты на чиповой платформе, позволяющие производителю нанести на тестовую основу несколько сотен маркеров для одномоментного исследования. [14, 15]

Очевидно, такой объем информации может носить характер эпидемиологического исследования, удобен для изучения среза сенсibilизации по территориальному, возрастному, иному признаку. Насколько информация по результатам такого тестирования для конкретного пациента оптимальна или избыточна, определяет врач клиницист, заказывая в лаборатории выполнение исследования в таком формате. Поскольку востребованность в таком исследовании сформировалась, лаборатории отвечают своим предложением.

Финансовая доступность для больного того и другого из описанных видов тестирования должна иметь значение и учитываться в иных альтернативных тестах.

Врач алерголог формулирует задачу перед лабораторией, которая должна иметь в своем распоряжении тесты в формате, обеспечивающий выполнение поставленной задачи. Если алерголог убежден, что ему достаточно получить результат по сенсibilизации к цельному алергену, лаборатории подчиненно имеют тесты с экстрактивными маркерами. Такая задача сопряжена с пониманием, что сенсibilизация к каждому известному как изначально избыточно «аллергенному» (цитрусовые, морепродукты, латекс и т.д.) продукту растительного и/или животного происхождения носит самостоятельный характер, не принимая во внимание компонентную структуру, существующие связи между гомологами внутри одной группы белков-компонентов этого «аллергенного» экстракта. Диагностика при такой задаче сводится к необходимости тестировать как можно большее число экстрактивных маркеров, что отражается на формате тестов – все, что считается «аллергенным», попадает в такие тесты, комбинируется в разных сочетаниях. Чем больше экстрактивных маркеров в таком тесте, тем большую ценность он приобретает для врача алерголога, заказывающий такой тест, а за ним и для лаборанта.

Если врач нацелен выявить сенсibilизацию к мажорным и минорным алергенам, то тесты в лаборатории под такую задачу выстроены исключительно с наличием мажорных и минорных компонентов экстрактов, без чего-либо дополнительного, становящегося избыточным. Врача-лаборанта мажорный алерген выводит в приоритетные маркеры, поскольку выявленная сенсibilизация к ним считается истинной, диагностический процесс – выполненным, исчерпывающим, поэтому прекращается. Выявлен-

ная сенсibiliзація к мiнорним алергенам воспринимается как мешающая, «размывающая», «заслоняющая» ответ в отношении истинной сенсibiliзації, не имеющая диагностической значимости. Случай же выявления сенсibiliзації к алергену, не входящему в систему градацій мажор-мiнор, как правило, ставит врача алерголога в тупик.

Задачей может быть необходимость оценить развитие закономерностей в сенсibiliзації к белкам гомологам с учетом перекрестной реактивности для полноценного понимания патологических процессов у конкретного больного. Гомологичность белков предполагает схожесть конструкций аминокислотных цепей, образующих в третичной структуре глобулу. Наличие линейных и конформационных эпитопов с одинаковой последовательностью аминокислот их составляющих, обуславливает схожий по клинике иммунный ответ группы гомологов на реакцию с одним клоном антител. [16]

Количественные характеристики, число белков, индуцирующих сенсibiliзацію, их групповая принадлежность отражается на клинической тяжести алергологического заболевания. [17]

Оценка известных характеристик сенсibiliзаторов по третичной белковой структуре, устойчивости ее к деструктивным процессам, которым подвергаются белки при пенетрации микробиомных барьеров слизистых и кожи во внутреннюю среду макроорганизма, дает возможность прогнозировать эпитопную последовательность конструктивных «обломков» белков, вступивших в контакт с иммунокомпетентными клетками больного. [18]

Оценка влияния микробиома на формирование алергологической реактивности

На пути проникновения антигенных структур во внутреннюю среду человека природой сформированы физиологические барьеры. Такими барьерами являются слизистые респираторного, желудочно-кишечного тракта и кожа, как основные, а также слизистыми органов мочеполовой системы, глаза. [19]

Эти поверхности заселены микроорганизмами, массивно и разнообразно настолько, что это жизненное множество рассматривается в качестве микрoэкологической системы. [<http://propionix.ru/mikrobiom-cheloveka>]

Вариативность типов окислительно-восстановительных реакций энергетического метаболизма у хемотрофных микроорганизмов обеспечивает высокий уровень приспособляемости к среде обитания, позволяет заселять ареалы барьерных слизистых и кожи. Факультативность дыхания (энергетический обмен) дает микроорганизмам возможность переходить с аэробного на анаэробное сульфатное, нитрат-

ное, карбонатное, фумаратное дыхание, в сочетании со спиртовым, молочнокислым, муравьинокислым, маслянокислым, пропионовокислым и другими типами брожения, что обеспечивает циркуляцию штаммов между слизистыми ЖКТ, РТ, кожей, формируя индивидуальный состав микробиома для каждого макроорганизма.

Жизнедеятельность микробиома кожи, слизистых ЖКТ, РТ и макроорганизма находится в динамическом равновесии, гомеостазе, сбалансирована в процессе взаимодействия чрезвычайно разнообразных клеточных и гуморальных факторов. Эта многомерность проявляется в симбиозе, синергизме, комменсализме, метабиозе, конкуренции, паразитизме, нейтрализме между микроорганизмами, составляющих микробиом, и с макроорганизмом-хозяином этого разнообразия жизни.

Вся эта вариативность постоянно протекающих биохимических, иммунологических процессов, образует бесчисленное количество метаболитов, проявляет себя в качестве барьера, за которым располагается внутренняя среда макроорганизма. Будучи в динамическом равновесии, складывающаяся при постоянной циркуляции бесчисленного числа субстратов из внутренней среды вовне и обратно, микрoэкологическая система сохраняет непроницаемость для генетически чужеродных, обладающих антигенными свойствами, агентов, что определяет состояние здоровья для макроорганизма. Эта непроницаемость обеспечивается отчасти механическим удалением со слизистых и кожи агентов воздействия, отчасти сложным биохимическим, иммунологическим воздействием, что призвано привести к полному разрушению внешних чужеродных агентов. Возникновение дисбаланса в микрoэкологической системе делает возможным проникновение неизмененного структурно, а чаще в той или иной степени разрушенной, антигенной органической субстанции. [20]

Факт того, что, неизбежно взаимодействуя с физиологическим барьером макроорганизма, органические вещества внешней среды подвергаются деструкции, является определяющим. Многообразие и сложность энергетического метаболизма (катаболизма) и конструктивного метаболизма (анаболизма) делают деструкцию белков при пенетрации неизбежным. [21]

Некоторые авторы, процессы, связанные с метаболизмом микробиома в своих публикациях, сравнивают с «метаболическим реактором», «плавильным котлом». В большей степени уместным такое сравнение представить строительной площадкой по возведению сложных конструктивно устроенных сооружений. Процесс строительства начинается с первых часов жизни макроорганизма, не прекращается

до его гибели. Более того, если труп макроорганизма не будет кремирован, а его заруют в землю, то несколько переформатировавшись, процесс будет продолжаться. При этом, строительными материалами служит то, что было получено при разборке построенного ранее, а также, принесенного с каждым вдохом воздушной взвеси, с каждой порцией пищи, с осевшим на кожу биологическим субстратом, и то, что поступило из внутренней среды макроорганизма. Разбирая предыдущие строения, и полученные извне, стройматериалы не вывозятся, не складываются, а запускаются в строительство нового сооружения, которое может быть осуществлено в сложившихся на момент работ условий окружающей среде (показатели pH, влажности, температуры, аэрации, электростатической константы) и требованиям задач, возникших по ходу строительства. Вновь возведенное сооружение с некоторым дискретным шагом во времени разбирается и запускается новый цикл. Интенсивность процесса высока, один цикл составляет несколько десятков минут.

Конструктивные и энергетические процессы протекают в клетке одновременно. У большинства прокариот они тесно связаны между собой. В процессе анаболизма синтезируются многочисленные ферменты, участвующие в энергетическом метаболизме. С другой стороны, в реакциях катаболизма образуется не только энергия для биосинтетических целей, но и многие промежуточные продукты, которые необходимы для синтеза веществ, входящих в состав клеточных структур. Метаболизм прокариот, как энергетический, так и конструктивный, отличается чрезвычайным разнообразием. Это является результатом того, что бактерии в качестве источников энергии и углерода могут использовать самый широкий набор органических и неорганических соединений. Такая способность обусловлена различиями в наборе клеточных периферических ферментов, или экзоферментов, относящихся к классу гидролаз, которые выделяются наружу и разрушают макромолекулы исходных субстратов до веществ с низкой молекулярной массой. Образующиеся в результате действия таких ферментов вещества поступают в клетку бактерий и подвергаются действию ферментов промежуточного метаболизма. Эти ферменты называются эндоферментами, так как они локализируются внутри клетки. Эндоферменты, синтезируемые микроорганизмами, относятся ко всем известным классам ферментов – оксидоредуктазам, трансферазам, гидролазам, лиазам, изомеразам и др. Многие из эндоферментов локализованы на мембранах или на рибосомах, в таком состоянии они называются связанными ферментами. Другие ферменты находятся в свободном, растворенном состо-

янии в цитоплазме. Набор ферментов в клетке может изменяться в зависимости от условий, в которых обитают бактерии, соответственно все ферменты подразделяют на две группы: конститутивные и индуцибельные. Конститутивные ферменты синтезируются постоянно, независимо от наличия веществ-субстратов. В клетке они обнаруживаются в более или менее постоянных концентрациях. Примером конститутивного фермента является ДНК-полимераза. Индуцибельные ферменты синтезируются в ответ на появление в среде субстрата-индуктора. К ним относится большинство гидролаз. Способность к индукции синтеза таких ферментов обеспечивает быструю приспособляемость бактерий к конкретным условиям.

Как видно, все органические и неорганические вещества, попадающие извне в среду обитания микробиома, используются в качестве субстрата для осуществления своей жизнедеятельности в конструктивных и энергетических процессах. От этого напрямую зависит существование микробиома как такового, что заставляет микроорганизмы использовать все доступные субстраты в их циклическом расщеплении до микросоставляющих с последующим синтезом необходимых для своего выживания макромолекул. Макроорганизму не досталось бы ничего, не существуя синергизма, мутуализма. [22]

В качестве аллергенных агентов выступают белки. Попав в среду обитания микробиома, они неизбежно подвергаются воздействию продуктов катаболизма и анаболизма.

Процесс пассивной диффузии как определяющий в резорбции белковых структур во внутреннюю среду макроорганизма

Растворение в водной среде, процесс денатурации как разрушение третичной структуры белков с последующим распадом пептидных связей накопления свободных аминокислот наступает в неизменной последовательности.

Белки являются амфотерными электролитами. При формировании третичной структуры все гидрофобные части погружаются внутрь молекулы, а на поверхности ориентируются гидрофильные группировки, обеспечивающие взаимодействие белковой молекулы с молекулами воды, составляющие гидратную оболочку, которая возникает за счет электростатического притяжения дипольных молекул воды к заряженной частице белка. Между зарядом белка и гидратацией существует тесная связь: чем больше полярных аминокислот содержится в белке, тем больше связывается молекул воды, что характеризует степень растворимости белка в воде. В растворенном состоянии белок представляет собой коллоидный раствор со свойствами слабых электролитов, в водном растворе амино-

кислоты ионизированы. Находясь в среде обитания микробиома на слизистых и коже, где с высокой интенсивностью образуется большое количество метаболитов в ходе жизнедеятельности микроорганизмов, меняющееся значение рН в месте пространства расположения белкового раствора в момент времени воздействия на этот раствор, приводит к перманентным изменениям диссоциации белковых молекул. Суммарный заряд карбоксильных и аминогрупп с положительного значения меняется на отрицательное и в обратном порядке непрерывно, проходя изоэлектрическое состояние при определенном значении рН. В этом состоянии суммарный заряд белка равен нулю. Нулевой заряд определяет минимальную вязкость, максимальную резорбцию через слизистые и кожу, которые выполняют функцию мембранного раздела внешней и внутренней сред. Величина рН является определяющим фактором для каждого белка его изоэлектрического состояния. Поскольку рН перманентно меняется, ни в каком, либо минимальном количестве времени белки в изоэлектрическом состоянии не находятся. Они ионизированы, степень диссоциации, выраженная величиной pK_a , постоянно колеблется вслед за колебаниями рН среды. Чем выше валентность зарядов ионизированных молекул белка, тем выше вязкость, снижается пенетрирующий эффект.

Кроме рН среды имеет значение воздействие на белковые молекулы мицелл детергентов и иных химических структур, обладающих денатурирующими свойствами, такими как мочевины, спирты, фенолы – продукты текущего метаболизма микроорганизмов. Известный пульмонологом сурфактант (в переводе с английского — поверхностно-активное вещество) – выстилающий лёгочные альвеолы изнутри (то есть находящийся на границе воздух-жидкость), препятствует слипанию стенок альвеол при дыхании за счёт снижения поверхностного натяжения плёнки тканевой жидкости, покрывающей альвеолярный эпителий, выступает классическим детергентом, участвуя в денатурации белков, проникшие с потоком воздуха в альвеолы. В настоящее время известно несколько сот различных детергентов. Все они разделяются на два основных класса: ионные и неионные детергенты в зависимости от наличия или отсутствия заряженных групп в гидрофильной области их молекул. Денатурация белка увеличивает степень диссоциации, уменьшая тем самым резорбцию белка. [23,24]

Воздействие протеолитических ферментов связано с постоянным присутствием их в среде микробиома и/или периодическим выделением пищеварительной системой макроорганизма.

Образующиеся в ходе расщепления белковых молекул пептиды и отдельные аминокислоты создают градиент концентрации, что путем пассивной диффузии перемещает метаболит из внешней среды через полупроницаемую мембрану слизистой, во внутреннюю. Процесс описан законами Фика. Любая субстанция, метаболит, несколько задержавшись в своем процессе расщепления, белок, накопившись в критическом значении концентрации, резорбцирует во внутреннюю среду.

Аминокислоты, пенетрировавшие во внутреннюю среду, иммунной системой человека воспринимаются толерантно, аллергологическая реакция не наступает. Пептиды, состоящие более чем из 5-7 аминокислот, воспринимаются как антигены (аллергены) с последующим запуском образования специфических антител. От характера иммуногенных свойств попавшего во внутреннюю среду антигена (аллергена), зависит формирование клинической картины аллергологического воспаления.

Можно предположить, что процесс расщепления белков до аминокислот остается незавершенным при возникшем у конкретного больного сочетанием факторов – значение рН среды воздействия на белок, близкая к изоэлектрической точке по отношению к белку, вызывающего сенсibilизацию у больного, количественная и/или функциональная недостаточность денатурирующего и протеолитического воздействия на этот белок со стороны микробиома и макроорганизма. Нормализация этих показателей является задачей, стоящей перед врачом-специалистом, взявшегося пользоваться аллергологическим больным. При этом функционирование иммунной системы с формированием специфического IgE опосредованного ответа необходимо расценивать как норму. Аллергия не является заболеванием иммунной системы, а формируется как один из видов воспаления, в качестве флоггена в котором выступают сохраняющие антигенные свойства, пептиды. [25-27]

Случайность пребывания белковой молекулы, принесенной ли с потоком воздушной взвеси при вдохе, перистальтически ли продвинутый с пищевым комком, тактильным ли контактом с кожей, в момент времени, в месте пространства в сочетании со случайностью значения рН среды того места, в момент времени пребывания белковой молекулы, со случайностью присутствия некоторого количества детергентов там же, со случайностью выделившегося в этот самый момент в описываемое место комплекса протеолитических ферментов, определяет закономерность формирования болезненного (аллергологического) состояния или сохранения здоровья.

Не имеет никакого значения, назван ли этот белок мажорным или он минорный, паналлерген, истинный сенсибилизатор или сопутствующий. Определяющим является сочетание факторов – устойчивость пространственной структуры белковой молекулы, её сохранность, накладываемая на протеолитические потенции конкретного макроорганизма с учетом клиренса поступившего белка в среду микробиома, где и происходит деструкция белков. Если результатом такого взаимодействия остается белковая структура с определенным набором эпитопов, сохраняющие иммуногенные (аллергенные) свойства, и она проникает во внутреннюю среду, возникает аллергологическое заболевание. Варибельность результатов деструкции белков определяет разнообразие индивидуальных клинических проявлений при сенсибилизации к аллергену с одной пространственной конструкцией белка. [28,29]

Именно количество и разнообразие эпитопов, сохранившихся в процессе деструкции при пенетрации защитного барьера слизистых и кожи определяет клиническую картину аллергологического заболевания. [28]

Можно с достаточно большой степенью уверенности прогнозировать развитие аллергологии от экстрактной, – через молекулярную, – к эпитопной. Рекомбинантные белки, используемые в качестве средств диагностики и лечения, являются предтечей эпитопной аллергологии.

Поскольку клинические проявления определяются иммуногенностью оставшегося по ходу деструкции эпитопного разнообразия, с диагностической точки зрения важно спрогнозировать состав разрушенной структуры белка во внутренней среде макроорганизма. Сделать это крайне затруднительно, если возможно вообще. Но понимание того, что степень сохранности белковой структуры внешней среды связана с нарушением гомеостаза микробиома и/или заболеваниями респираторной, желудочно-кишечной систем, кожи, делает необходимым принимать меры, восстанавливающие функции микробиома, используя, в качестве примера, пробиотические средства и заниматься лечением заболеваний ЖКТ, РТ, кожи с привлечением профильных специалистов. Именно эти факторы, а не «болезнь иммунной системы», определяют патогенез аллергологического воспаления.

Это возможно при понимании пространственной структуры цельного белка, присутствующего во внешней среде. Поскольку феномен гомологичной реактивности делает возможным собрать белки схожей структуры в отдельные группы, диагностический поиск таких групп становится определяющим. Количество белков гомологов, собранных по групповому признаку, имеющих описанные характеристи-

ки их структур на сегодня намного больше, чем доступных в качестве лабораторных маркеров. Это ограничивает возможности лабораторной диагностики, но отработанные методики изготовления нативных и рекомбинантных маркеров делают возможным нарастить число новых, ранее не используемых в лаборатории, маркеров. Скорость такого процесса увеличивается со временем.

Выявленная сенсибилизация к одному или нескольким гомологам дает возможность провести анализ известных характеристик белковых структур, которые уже вовлечены или с высокой степенью вероятности как гомологи могут быть вовлечены в процесс формирования клинической картины у конкретного больного. Известно, что структура белков хранителей (storage proteins) устойчива к воздействию внешних факторов, сохраняет жесткость своей конструкции, что объясняет крайнюю тяжесть клинических проявлений при сенсибилизации к Ara h 1,2,3,6,9 Cor a14 Jug r1 и другим. При этом внутри группы гомологов не существует абсолютной идентичности. Это означает, что разрушение в равных условиях у белков-гомологов происходит в разной степени. [30-33]

Напротив, профилины, α , β лактальбулины не стойки, клинические симптомы при сенсибилизации к этим белкам чаще всего легкие.

Поставленная задача на поиск белков-гомологов, дающих сенсибилизацию, определяет формат лабораторных тестов. Тесты при такой задаче должны быть скомпонованы по групповому признаку гомологии. [34]

Алгоритм использования аллергологических тестов

Выбранный производственной фирмой Симеста формат линейного блота дает возможность оптимизировать набор маркеров на каждом из блотов, а количество видовых форм блотов, используя которые в определенной последовательности алгоритма, даст, стремящийся к объективности, набор информации при низких затратах для больного. При этом основной целью выбрана необходимость оценить наличие сенсибилизации к максимально доступному числу белков гомологов, не растрачивая ресурсы на оценку белков из гомологичных групп, не затронутых сенсибилизацией, тем самым концентрируя усилия в диагностически значимом направлении. Такая информация даст возможность охарактеризовать, при необходимости прогнозировать, тяжесть аллергологического заболевания, выяснить первопричину в таких цепях как респираторные и пищевые аллергены, клещи-таракан-ракообразные, сывороточных альбуминов молока-красного мяса – эпи-

теля животных и т.д. У врача появляется набор инструментов, которые в зависимости от клинической ситуации, можно применить с максимальной отдачей. Поскольку в каждом конкретном случае объем лабораторного исследования определяется жалобами, анамнезом, клиническими проявлениями, заложена возможность избирательно назначить тест с таким набором маркеров, который для пациента будет приемлемо необходим.

Алгоритм, предлагаемый разработчиками Симесты, предполагает на первом этапе использовать тест с комплектацией исключи-

тельно экстрактными маркерами в качестве скрининга. Надо учитывать, что экстрактный тест информационно ограничен, не дает представления о реактивности белков-компонентов, входящих в экстракт. [35]

Но в некоторых случаях респираторной аллергии, когда в ходе опроса пациента, врачу не удастся выявить группу аллергенов, которая могла бы сузить и дать направление детализации в поиске сенсibilизатора, использование такого теста оправдано, целесообразно. На рисунке №1 представлен блот «Респираторный экстрактный»

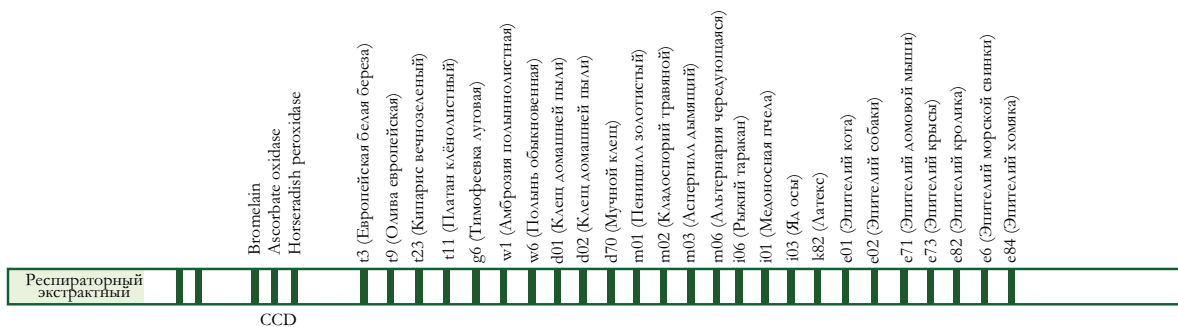


Рисунок №1 Линейный блот «Респираторный экстрактный»

При оценке результата, полученного на основе экстрактного теста, необходимо учитывать важную особенность, которая сводится к тому, что уровень реактивности на экстрактный аллерген, выявленный при инкубации сыворотки пациента, не составляет сумму уровней реактивности каждого составляющего экстракт компонента. Это значит, что в некоторых случаях реактивность на экстракт может быть ниже уровня реактивности одного из компонентов. [12]

В публикации за авторством Jan Hed, Cross-reactivity in plant food allergy – Clinical impact of

Component Resolved Diagnostics (CRD) Clinical Immunology Karolinska Institute, Stockholm, Sweden приведены результаты аллергологической реактивности сывороток восьми больных, которые инкубировали с экстрактом тимофеевки и ее восьмью белками компонентами. В трех из них уровень реактивности одного из компонента превышал уровень реактивности на экстракт.

Аналогичный результат демонстрируется на мультиплексном блоте Симеста «Пыльца деревьев», (рисунок №2)

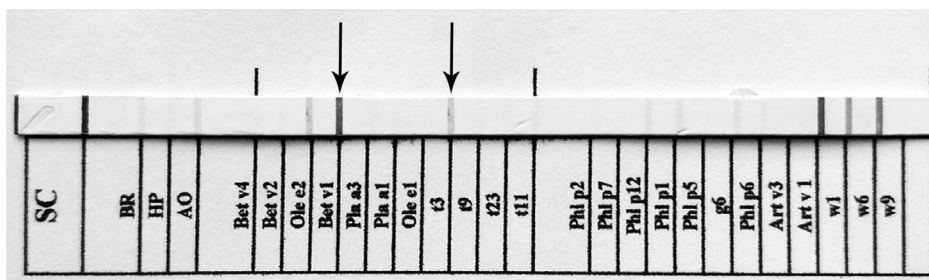


Рисунок №2 Фото линейного блота «Пыльца деревьев» с полученным результатом тестирования

где реакция на экстракт березы у обследуемого пациента (правая стрелка) с использованием такого блота значительно ниже реакции на Bet v 1 (левая стрелка). Пренебрежением такой особенностью экстрактных тестов ведет к неверной диагностике.

При разработке скринингового респираторного блота принималось во внимание разнообразие аллергенов из различных биологических групп. Это и пыльцевые аллергены, и аллергены клещей и плесеней, эпителий домашних животных и грызунов, обитающих в жилищах человека,

и латекс. Гомология дает возможность сократить число маркеров, что освобождает место для компактной структуры теста. Наглядно это отразилось на подборе пыльцевых аллергенов. Число их ограничено не произвольно, а с учетом феномена перекрестной реактивности среди гомологов.

Перекрестная реактивность не относится исключительно к аллергологии. Описанное явление характерно, например, для альбуминов, коллагенов, миоглобинов различных видов животных. Обнаружено также сходство антигенных детерминант стрептококка, сарколеммы миокарда и базальной мембраны почек, *Treponema pallidum* и липидной вытяжки из миокарда крупного рогатого скота, возбудителя чумы и эритроцитов человека O (I) группы крови.

Возможность использовать принципы перекрестной реактивности в лечебно-диагностических целях зафиксирована в нормативных документах Guidance on Allergen Products CPMP/BWP/243/96 «Руководстве по продуктам для аллергенов» CPMP/BWP/ 243/96, выпущенном Европейским агентством по лекарственным средствам, содержатся нормативные инструкции, касающиеся качества экстрактов аллергенов для диагностических или терапевтических целей. Текущая редакция данного руководства направлена на преобразование так называемого «принципа таксономических семейств» в «принцип гомологичных групп». Согласно этой концепции, данные одного экстракта аллергена, демонстрирующего стабильность, эффективность и безопасность, могут быть в ограниченной степени экстраполированы на другие экстракты аллергена, принадлежащие к тем же гомологичным группам. [36]

Перечисленные аргументы призваны убедить в правильности выбранного принципа формирования аллергологических тестов «Симесты».

Перекрестная реактивность внутри группы белков-гомологов

Перекрестная реактивность, как явление, возможна в случае структурного сходства белков антигенов, которые в силу своей идентичности в строении, объединены в группы гомологов. Гомологичность обеспечивает комплементарное связывание антител, образованных к эпитопам одного белкового аллергена к идентичным по аминокислотной конфигурации эпитопам других белков-аллергенов, входящих в одну группу. Используя этот принцип, возможно значительно, без существенного ущерба в информативности, сократить число маркеров в тесте. Так, пыльца березы выбрана манифестным маркером в большом сообществе пыльцевых аллергенов из семейства Fagales. В это семейство входят ольха, орешник, граб, каштан, бук, дуб и еще достаточно большое число деревьев (allergen.org.). Пыльца кипариса (Pinales) гомологична пыльце можжевельников и хвойных деревьев. Близким родственником оливкового дерева (Lamiales) в средних широтах яв-

ляется сирень. По аналогичному принципу выстраиваются гомологичные ряды пыльцы трав. Использовать в тесте экстрактивных маркеров тимофеевки, амброзии, полыни, подорожника, постеницы, чертополоха достаточно для оценки возможной сенсибилизации ко всему разнообразию трав средней полосы. Информация, полученная при работе скринингового респираторного теста, не может быть исчерпывающей, что делает необходимым прибегнуть к тестам, уточняющие компонентный состав экстракта и взаимоотношения выявленных гомологов.

С учетом того, что тест содержит экстрактивные маркеры растительного происхождения, в составе которых большая вероятность присутствия гликозилированных протеинов, таких как Phl p 4, Сахарная составляющая таких гликопротеинов может содержать карбогидратные детерминанты, антигенность которых достаточна для формирования антител, которые, при их наличии, будут выявляться в сыворотке больного. Поскольку иммуногенность CCD крайне низка, присутствие антител к ним клинически не проявляется. Это значит, что выявленные антитела к CCD в ходе лабораторного теста могут расцениваться как ложно положительный результат. На экстрактивном респираторном блоте «Симесты» размещены три маркера CCD – бромиллин, аскорбат оксидаза, пероксидаза хрена. [37]

В случае присутствия в сыворотке пациента антител к CCD, маркеры CCD на блоте дадут положительную реакцию, что должно свидетельствовать о несколько завышенной реактивности по другим растительным экстрактивным маркерам этого блота. В таком случае целесообразно использовать CCD блокеры, входящий в линейку предлагаемых «Симестой», реактивов. При обработке сыворотки CCD блокером, присутствующие в ней антитела с CCD будут связаны компонентами блокера с последующим удалением образовавшегося комплекса из исследуемой сыворотки.

Для пищевых аллергенов скрининговым тестом первого этапа был выбран формат мультиплексного блота, на котором одновременно размещены экстрактивные и молекулярные маркеры – компоненты этих экстрактов (рисунок №3). Выбор маркеров на этом блоте связан с разнообразием пищевого рациона, что в некотором числе случаев не дает возможность даже больному определить аллерген, вызывающий реакцию на его прием в пищу.

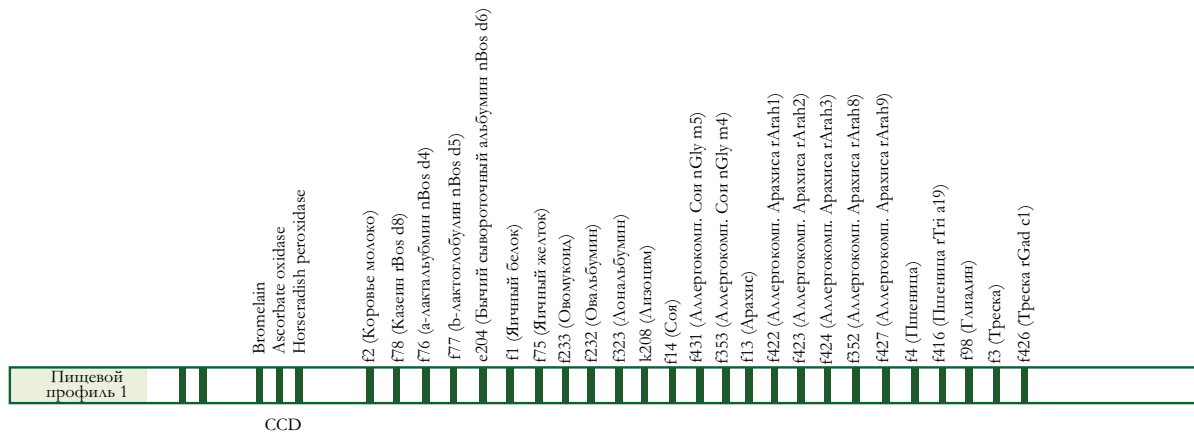


Рисунок № 3 Линейный блот «Мультиплексный пищевой профиль»

Маркеры продуктов питания, которые используются в пищевом рационе с раннего до преклонного возраста, оправданно использовать в случаях неопределенности на этапе опроса пациента. Информационный объем достаточно велик и составляет следующее.

Выявленная сенсibilизация к казеину Bos d 8 будет требовать вывести цельное молоко из рациона больного. Сенсibilизация к -лактальбумин Bos d 4 и -лактоглобулины Bos d 5 допускает прием пастеризованного молока. Сенсibilизация к бычьему сывороточному альбумину (BSA) Bos d 6 предполагает возможные перекрестные реакции с сывороточными альбуминами эпителия домашних животных и красного мяса (синдром «кошка-свинина»). Выявить такие связи возможно, используя блот «Сывороточный альбумин, липокалин».

Овомукоид Gal d 1 и Овотрансферрин Gal d 3 являются термостабильными и стойкими к деструкции белками, что предполагает возможность тяжелых аллергических осложнений. Овоальбумин Gal d 2 не настолько стоек, но выявлены перекрестные реакции с противогриппозной вакциной, очевидно вследствие использования куриных яиц в технологическом процессе изготовления вирусных вакцин.

Tri a 14 белок, ассоциирован с астмой пекаря. Очевидно, что при таком заболевании преобладающее значение имеет такой фактор иммуногенности (аллергенности) как клиренс аллергена. Находясь всю рабочую смену в атмосфере с избыточным содержанием мучной пыли, даже полноценно функционирующая протеолитическая система пекаря не сможет расщепить избыточного количества пшеничного белка. Будучи белком семейства nsLTP, дает перекрестные реакции с гомологами из других ботанических групп. Выявить перекресты внутри этой группы, возможно, используя блот «Симесты» «PR-10 nsLTP». Омега-5-глиадин (Tri a 19) – пшенично-зависимая анафилаксия, вызванная физическими нагрузками (WDEIA), ха-

рактеризуется анафилактическими реакциями после приема пшеницы и физических упражнений. WDEIA – это редкая, но потенциально тяжелая форма пищевой аллергии. Было показано, что омега-5-глиадин информативен для диагностики WDEIA in vitro.

Gly m 5, Gly m 6. Сенсibilизация к этим белкам определяет тяжесть реакции на сою, могут рассматриваться как диагностические маркеры для выявления больных с высоким риском серьезных клинических симптомов. Gly m 4 относится к семейству PR-10, является основным соевым аллергеном для пациентов, страдающих аллергией на пыльцу березы. Тяжесть аллергической реакции вплоть до анафилаксии определяется сочетанной сенсibilизацией к Bet v 1 и Gly m 4. Выявить перекрестные реакции внутри группы белков PR-10 возможно, используя блот «Симеста» «PR-10 sLTP».

Ara h 1 (викилин), A h 2 (проламин) являются белками хранителями (storage proteins), пространственная структура которых чрезвычайно стойкая, жесткая, устойчивая к процессу деструкции, с чем связаны максимально тяжелые проявления аллергического заболевания при сенсibilизации к этим белкам. Ara h 8 – относится к семейству PR-10, что обуславливает перекрестные реакции с Bet v 1 и Gyl m 4. Ara h 9 – является маркером сенсibilизации к белкам группы nsLTP, которые связаны с системными и тяжелыми реакциями в дополнение к синдрому оральной аллергии (OAS).

Парвальбумины (Gad m 1 трески, Sal s 1 лосося, Sur s 1 карпа) являются респираторными и пищевыми аллергенами рыбы. Продукты переработки рыбы (рыбный желатин, коллаген, изингласс) содержатся в продуктах питания (напитки, конфеты), фармпродуктах (гели, капсулы, оболочки), о чем, как правило, производитель не предупреждает. Парвальбумины разных рыб проявляют выраженную перекрестную реактивность. Однако карп и сельдь содержит в 100 раз больше парвальбуминов, чем скум-

брия и тунец. Это может обуславливать моно- и олигочувствительность к отдельным видам рыб. Также белки енолаза (Gad m 2, Sal s 2, Cyp c 2), альдолаза (Gad m 3, Sal s 3, Cyp c 3) могут вызывать специфическую сенсibilизацию, не дающую перекрестной реакции. Парвальбумины не присутствуют в икре рыб, поэтому пациенты с

аллергией на икру часто переносят мясо рыбы. *Anisakis simplex* – паразит рыбы, может вызывать самостоятельную аллергию.

Упрощенной версией служит «молочный» блот (рисунок №4) для диагностики пищевой аллергии в раннем возрасте, когда молоко служит единственным продуктом питания.

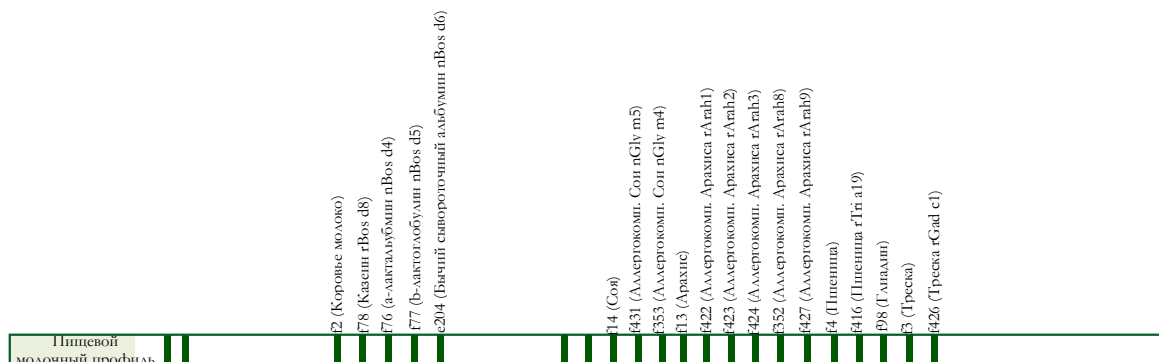


Рисунок №4 Линейный блот «Молочный»

Предложенные скрининговые респираторный и пищевой блоты дают возможность определить направления в лабораторном исследовании следующего этапа или в случае с парвальбуминами закончить тестирование. [38]

На втором этапе возможно целенаправленно использовать респираторные пыльцевые мультиплексные блоты, (рисунок 5, 6).

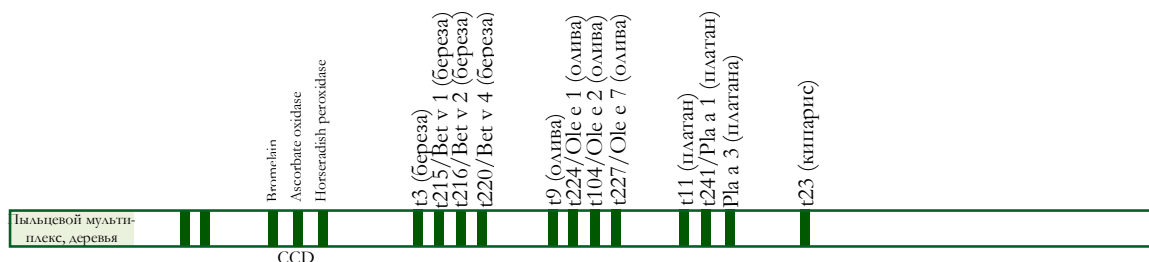


Рисунок 5. Линейный блот «Пыльцевой мультикомплекс, деревья»

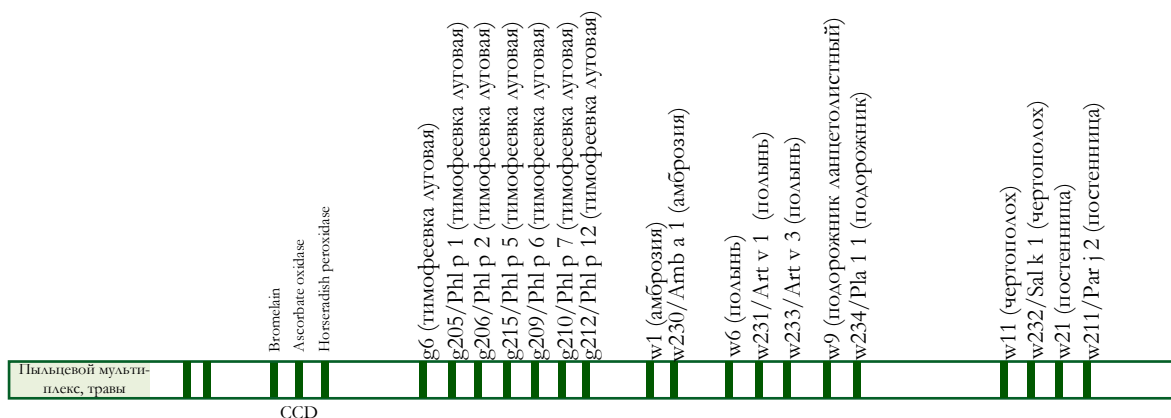


Рисунок 6. Линейный блот «Пыльцевой мультикомплекс, трав»

Получив результат о характере пыльцы на первом этапе по экстрактному респираторному скринингу. Эти же блоты имеет смысл применить изначально, если в ходе опроса удастся определить у больного связь заболевания с периодом цветения деревьев или трав. Получен-

ный результат дает возможность выявить белки гомологи таких групп, как профилины, кальцины, PR-10, nsLTP и других. Поскольку тяжесть клинических проявлений напрямую зависит от сенсibilизации к гомологам конкретной группы, такая информация даст возможность

определяться с тактикой терапии больного. Известно, что сенсibilизация к кальциинам, профилинам как правило сопровождается легкими симптомами, в отличие от сенсibilизации

к PR-10, тем более к nsLTP, при которой тяжесть клинических проявлений возрастает вплоть до анафилактического шока.

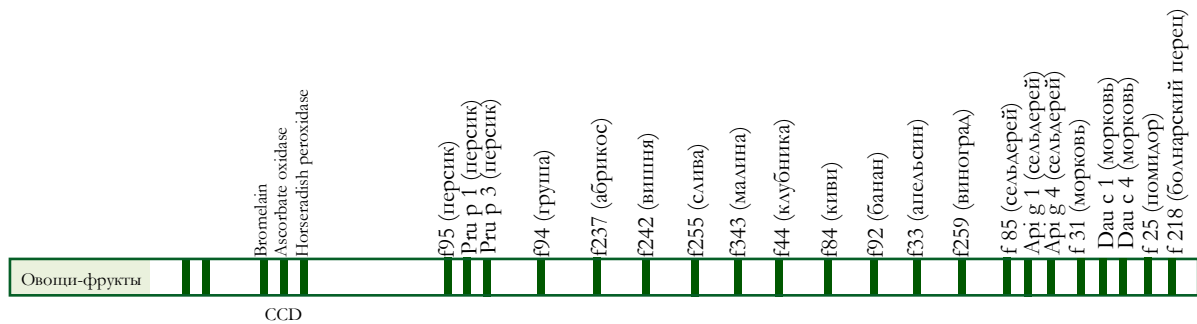


Рисунок 7. Линейный блот «Овощи-фрукты»

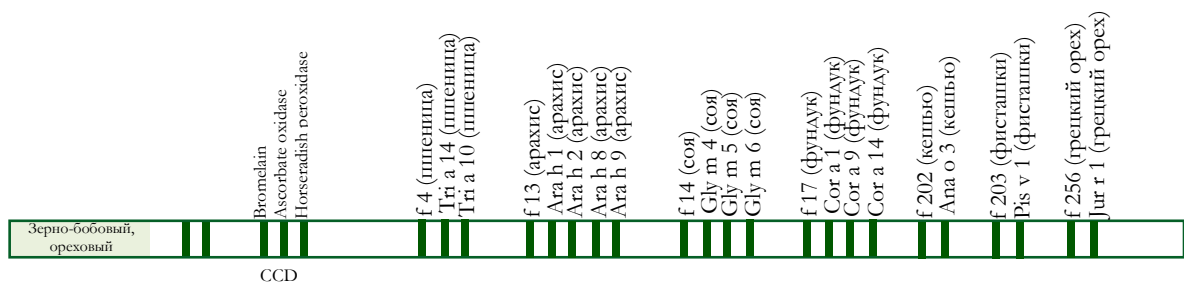


Рисунок 8. Линейный блот «Зерно-бобовый, ореховый»

Выявив сенсibilизацию к одному из белков гомологичной группы, например Bet v 1 (PR10), используя блот «PR-10, nsLTP» (рисунок №9) третьего этапа, возможно определить сенсibilизацию к гомологам из других ботанических семейств, например Gly m 4. Ara h 8 арахис Cor a 1 фундук Dau c 1 морковь Ari g 1

сельдерей Mal d 1 яблоко (PR10). По степени реакционного ответа на отдельные белки гомологи может определить первопричину заболевания – превалирует ли респираторный или пищевой этиологический фактор. Эта информация становится определяющей в выборе средства терапии.

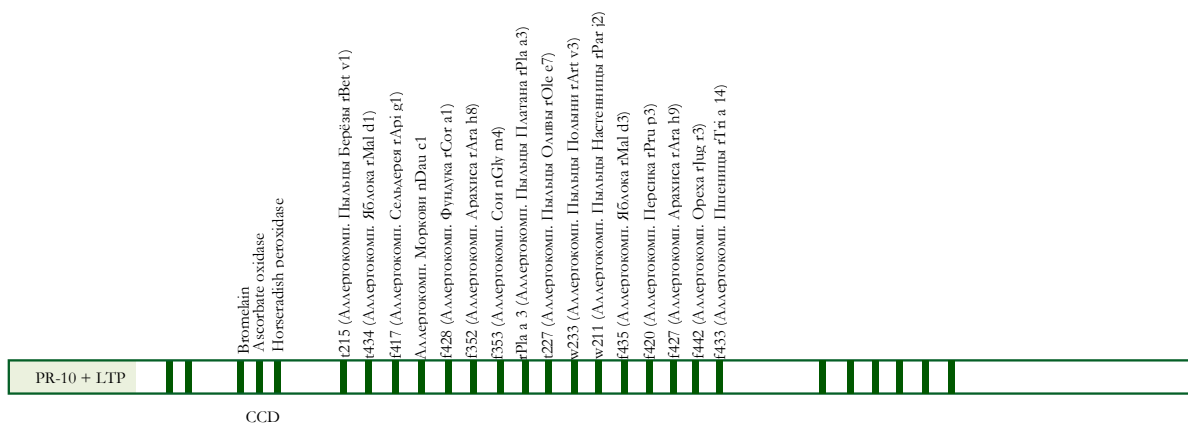


Рисунок № 9 Линейный блот «PR-10, nsLTP»

Аналогичный алгоритм применим для пищевых экстрактов (рисунки № 7,8) с выходом на оценку гомологов растительных белков. Так выявленная сенсibilизация к Ara h 1 арахис

дает возможность оценить реакцию больного к белкам хранителям, используя блот «Storage proteins» (рисунок №10).

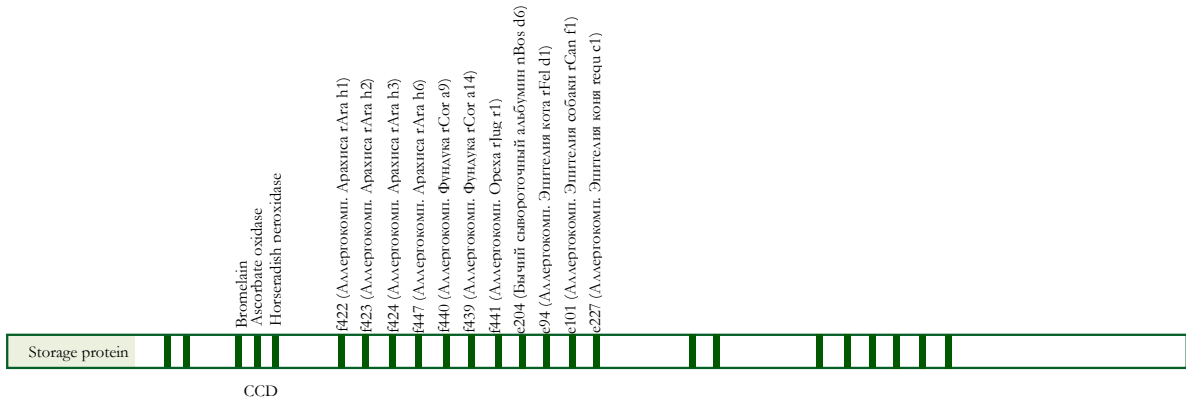


Рисунок № 10 Линейный блот «Storage proteins»

Блот «Profilins Polcalcins» (рисунок №11) целесообразно использовать в случаях выявления сенсibilизации к единичному представителю

профилинов или полькальцинов на первом и/или втором этапах алгоритма.

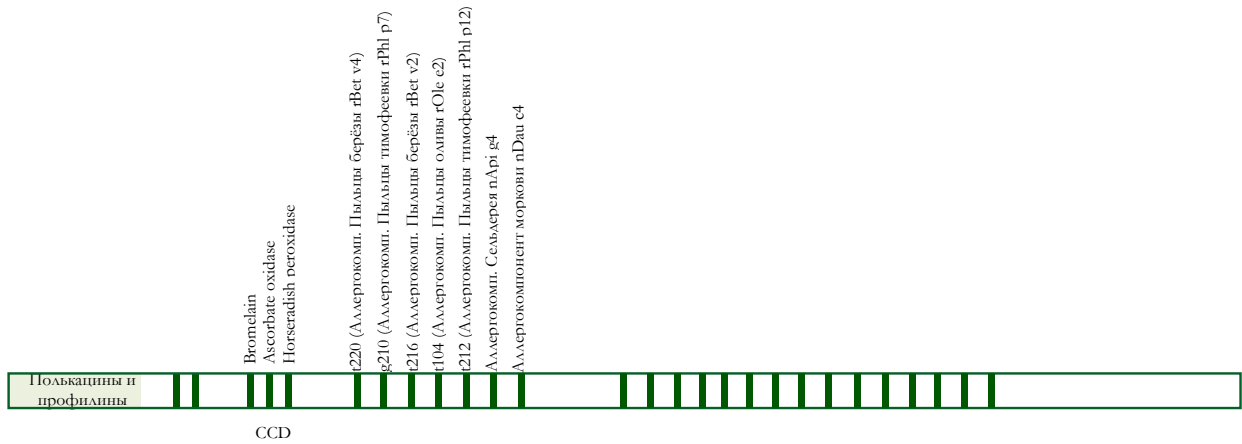


Рисунок №11 Линейный блот «Profilins Polcalcins»

В линейке тестов разработчики Симеста предлагают блот «Сывороточные альбумины, липокаины» (рисунок № 12), используя который,

возможно оценить причинную связь аллергии на молоко, красное мясо, домашних животных.

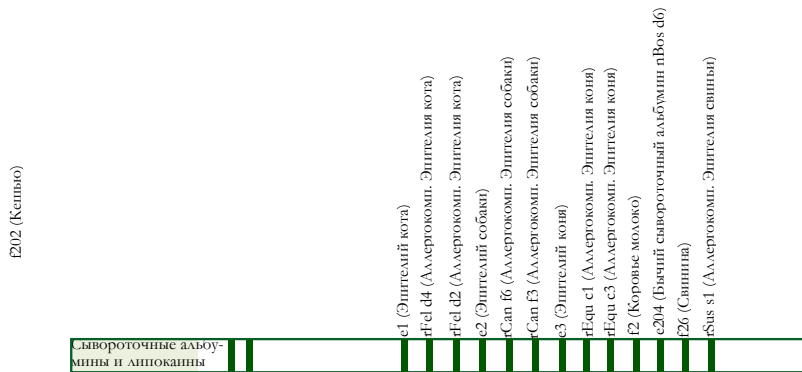


Рисунок №12 Линейный блот «Сывороточные альбумины, липокаины»

Блот «Тропомиозины» позволяет определиться с сенсibilизацией внутри этой гомологичной группы белков-аллергенов.

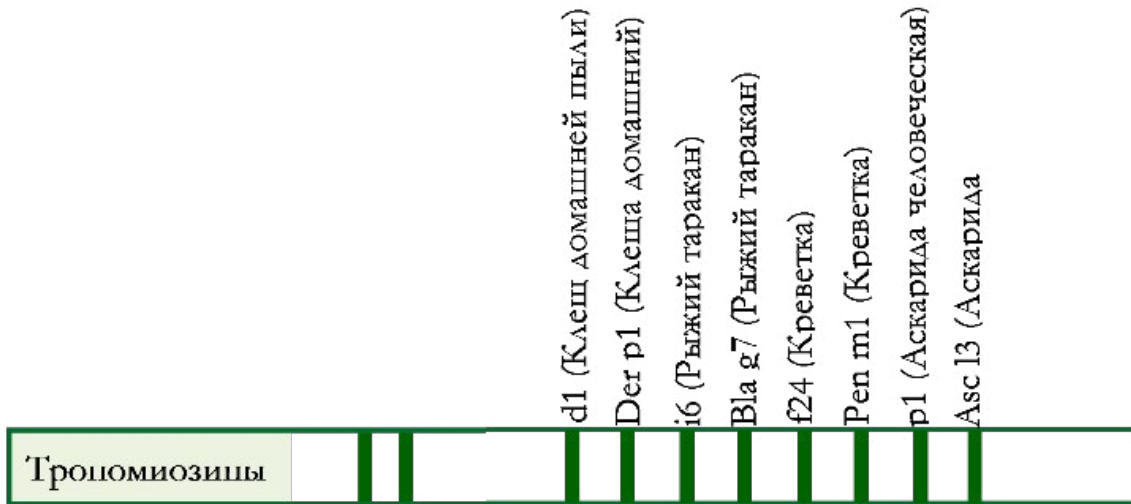
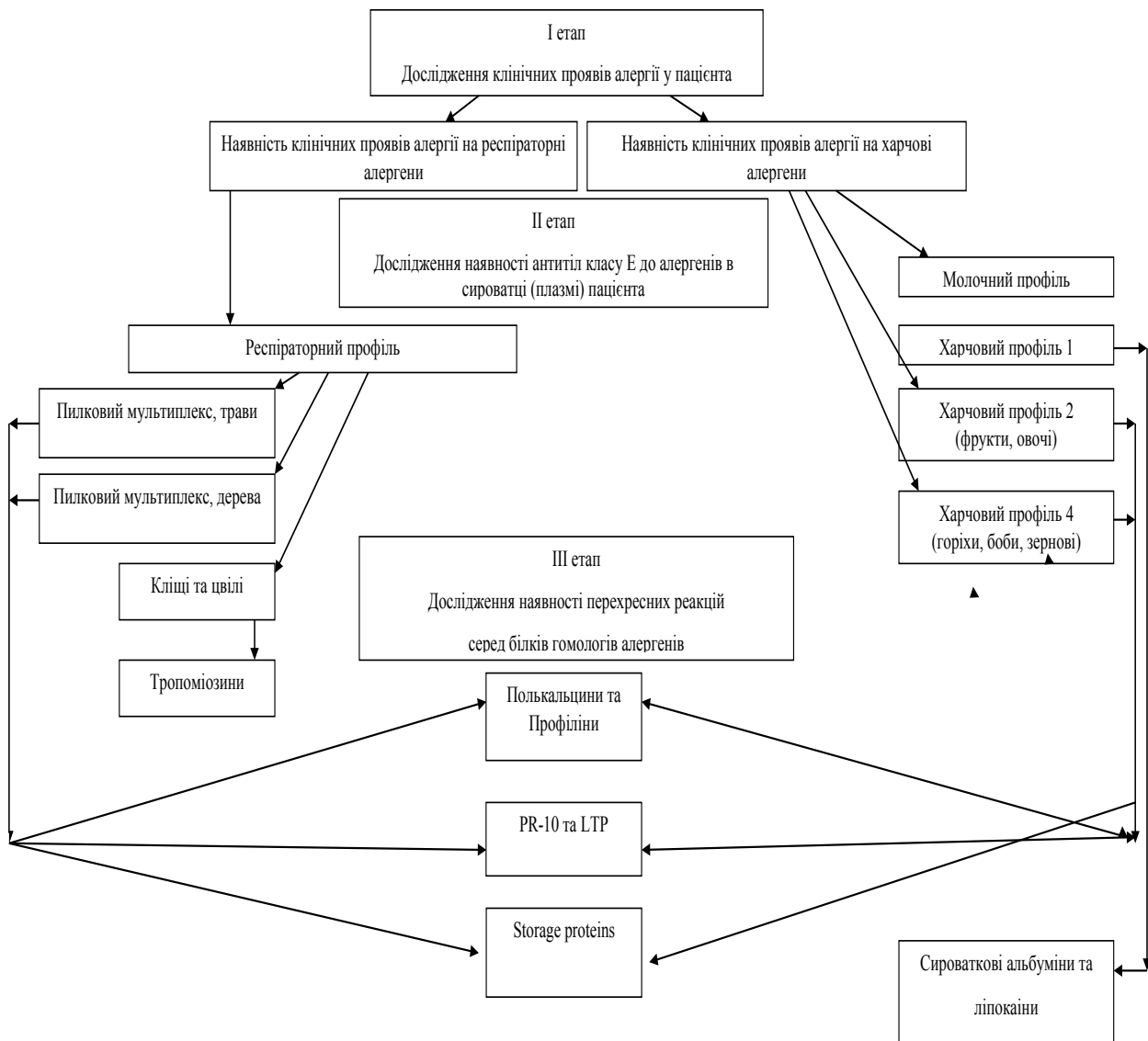


Рисунок №13 Линейный блот «Тропоміозини»

Алгоритм комплексного использования блотов Симеста собран в схему:

Алгоритм послідовного використання додаткових тестів Виробничої Фірни Симеста



Прогноз на будущее аллергологии

Можно предположить, что развитие лабораторной диагностики аллергологических заболеваний приведет к появлению эпитопных тестов. Технически уже сейчас возможно получить рекомбинантные пептиды с последовательностями максимального количества эпитопов нативного белка.

Современные разработки и производители исходят из задач молекулярной аллергологии, что определяет необходимость сконструировать рекомбинантный белок, повторяющий последовательность эпитопа с максимальной выраженной иммуногенностью, остальной набор эпитопов во внимание не принимается. [39,40]

И это понятно, учитывая задачи, стоящие перед молекулярным аллергологом – получить средство лечения заболевшей иммунной системы. Всеми признанный способ АСИТ, предполагает воздействие на больную иммунную систему малыми дозами сенсibilизирующего белка, т.е. клиницист должен использовать целостную молекулу сенсibilизатора, Эпитоп с максимальными иммуногенными свойствами является самым характерным, манифестным, признаком, маркером, такого белка, наличие антител в сыворотке больного к которому, выявит целостный белок, его содержащий.

В уверенности того, что аллергия не является заболеванием иммунной системы, а возникает как воспалительный ответ на нерасщепленные пептиды, проникшие во внутреннюю среду, возникает необходимость в конструировании теста, определяющий причины недостаточности деградации конкретных белков-сенсibilизаторов. Существующий объем информации <http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/> описывает разнообразие эпитопов конкретных белков. Собрать тест, состоящий из рекомбинантных пептидов, в таком количестве, которое повторяло все известные отдельно взятые эпитопы конкретного белка, технически возможно. [41]

Анализ полученного результата по такому тесту через антительный ответ даст возможность воспроизвести пространственную структуру того пептида, который вызвал сенсibilизацию. Понимая механизмы деградации, а именно – последовательность этапов расщепления, значение величин рН, рК, присутствие детергентов и протеолитических ферментов со специфическими характеристиками и последующей диффузии белковых остатков, даст возможность сопоставить значимость всех факторов этих процессов, предполагаемый результат их действия с выявленной конструкцией пептида, в итоге найти патогенетические звенья, выпадающие у больного, ведущие к несостоятельному расщеплению белка.

В своей работе разработчики Симеста используют нативные и рекомбинантные маркеры, создаваемые в рамках задач молекулярной аллергологии. Однако, вполне возможно, что через некоторое время на рынке лабораторных услуг появятся тесты, выполненные в концепции эпитопной аллергологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дранник ГН. Клиническая иммунология и аллергология. Одесса. – 1999. - 603 с.
2. Пухлик БМ. Аллергия и как ей противостоять. Донецк. – 2009. – 96 с.
3. Адо АД. Общая аллергология. Москва. – 1976. – 468 с.
4. Ковальчук ЛВ, Ганковская ЛВ, Мешкова РЯ. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. - М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2011 г. – 640 с.
5. Рабсон Л, Ройт А, Делвиз П. Основы медицинской иммунологии: пер. с англ Москва: Мир. - 2006. - 320 с.
6. Breiteneder H, Chapman MD. Allergen Nomenclature Indoor Biotechnologies, Inc., Charlottesville, Virginia, U.S.A. 2014;37-49. DOI: 10.1201/b16539-3
7. Schein CH, Ivanciuc O, Braun W. Bioinformatics Approaches to Classifying Allergens and Predicting Cross-Reactivity Immunol Allergy Clin North Am. 2007;27(1):1-27. DOI: 10.1016/j.iac.2006.11.005
8. Breiteneder H. Allergen families and databases. EAACI Molecular allergology User's guide. Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2016;27(23):1-250.
9. Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Медуницын НВ. Механизмы аллергической реакции немедленного типа, препараты и методы специфической иммунотерапии. Иммунология. 2016; 37 (1). DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1
10. Грищенко ЕА. Базовые понятия аллергологии (часть 2). ООО «Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии», Москва. – 2017.
11. Хаитов РМ, Ильина НИ. Федеральные клинические рекомендации по проведению аллерген-специфической иммунотерапии. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов. Москва. – 2014 г., - 1-13
12. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Ollert M. Allergology from extracts to molecules: integrating tradition innovation. Molecular allergology User s guide EAACI, Pediatric Allergy and Immunology. 2016;27(23):1-236. DOI: 10.1111/pai.12563

13. Бала АМ, Клещенко АБ, Чурсинова ЮВ. ГБУЗМОМОНИКИИМ.М.Ф.Владимирского. Москва. «РМЖ» №1 от 30.04.2019 г., – 56-61 с.
14. Гуманова НГ, Климушина МВ, Метельская ВА, Бойцов СА. Возможности применения технологии protein microarray (микрочипов) для анализа белкового состава сыворотки крови. ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России 10-1990 г. Москва. 2016; 60(10): 16-21 с.
15. Lupinek C, Wollmann E, Valenta R. Advances in allergen-microarray technology for diagnosis and monitoring of allergy: The MeDALL allergen-chip. 2014; 66(1); 106-119. DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.10.008
16. Pearson RP. An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. 2014. DOI: 10.1002/0471250953.bi0301s42
17. Rob CA. Assessment of allergen cross-reactivity. *Clinical and Molecular Allergy*. 2007;(2):5. DOI: 10.1186/1476-7961-5-2.
18. Dall’antonia F, Pavkov-Keller T, Zangger K, Keller W. Structure of allergens and structure-based epitope predictions. 2014;66(1):3–21. DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.07.024
19. Schleimer RP, Berdnikovs S. Etiology of epithelial barrier dysfunction in patients with type 2 inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(6):1752–1761. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.04.010
20. Frei R, Lauener RP, Cramer R, Mahony LO. Microbiota and dietary interactions – an update to the hygiene hypothesis? *Allergy* 2012 ;67 ;451-461. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02783.x
21. Лысак ВВ, Микробиология: уч. Пособие. Минск: БГУ. – 2007. – 426 с
22. Никонов ЕЛ, Гуревич КГ. Микробиота различных локусов организма. Москва. – 2017 г. – 38 с.
23. Даренская ТВ. Денатурация белков под действием ионных детергентов. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Москва. – 2010 г. – 2с.
24. Куценко СА. Основы токсикологии. Том 4. Санкт-Петербург. – 2002 г. – 119 с.
25. Висмонт ФИ. Воспаление (Патофизиологические аспекты). Учебно-методическое пособие Минск. – 2006 г. – 51 с.
26. Гуцин ИС. Аллергическая реактивность – эволюционное приобретение высокоорганизованных животных ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. РАЖ №1, г. Москва. – 2014 г. – 7-16 с.
27. Гуцин ИС. IgE-опосредованная гиперчувствительность как ответ на нарушение барьерной функции тканей ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, г. Москва. *Иммунология* 2015; 36(1), 45-52 с.
28. Pekar J, Ret D, Untersmayr E. Stability of allergens. *Molecular Immunology*. – 2018. Vol. 100. – P. 14-20. DOI: 10.1016/j.molimm.2018.03.017
29. Berard F, Marty JP, Nicolas JF. Allergen penetration through the skin. *Eur J Dermatol*. 2003; 13 (4): 324-30
30. Sirvent S, Akotenou M, Cuesta-Herranz J, Vereda A, Rodríguez R, Villalba M, Palomares O. The 11S globulin Sin a 2 from yellow mustard seeds shows IgE cross-reactivity with homologous counterparts from tree nuts and peanut. *Clinical and Translational Allergy*. 23 (2012). DOI: 10.1186/2045-7022-2-23
31. Sirvent S, Palomares O, Cuesta-Herranz J, Villalba M, Rodriguez R. Analysis of the Structural and Immunological Stability of 2S Albumin, Nonspecific Lipid Transfer Protein, Profilin Allergens from Mustard Seeds. 2012., Vol. 60, P: 6011-6018. DOI: 10.1021/jf300555h
32. Schulten V, Nagl B, Scala E, Bernardi ML, Mari A, Ciardiello MA, Lauer I, Scheurer S, Briza P, Jurets A, Ferreira F, Jahn-Schmid B, Fischer GF, Bohle B. Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein from peach, dominates the immune response to its homolog in hazelnut. 2011;66(8): 1005-1013. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02567.x.
33. Биотехнологический способ получения меченого стабильными изотопами липид-транспортирующего белка чечевицы (*Lens culinaris*) дипломная работа. 16.07.2013 г.
34. Aalberse RC. Assessment of allergen cross-reactivity. 2007;5(2). DOI: 10.1186/1476-7961-5-2
35. Valenta R, Karaulov A, Niederberger V, Zhernov Y, Elisyutina O, Campana R, Focke-Tejkl M, Curin M, Namazova-Baranova L, Wang JY, Pawankar R, Khaitov M. Allergen Extracts for In Vivo Diagnosis and Treatment of Allergy: Is There a Future. *Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(6):1845-1855. DOI: 10.1016/j.jaip.2018.08.032
36. Lorenz AR, Lüttkopf D, May S, Scheurer S, Vieths S. The principle of homologous groups in regulatory affairs of allergen products - a proposal. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;148(1):1-17. DOI: 10.1159/000151243
37. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Sensitization to cross-

reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(1):137–144. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2004.01837.x.

38. Tong WS, Yuen AWT, Wai CY, Leung NYH, Chu KH, Leung PSC. Diagnosis of fish and shellfish allergies. 2018;11:247-260. DOI: 10.2147/JAA.S142476
39. Преображенская ОВ, Кузьменко ЮВ, Стародубова ЕС, Карпов ВЛ, Тютяева ВВ, Мартынов АИ. Способы получения молекулярных конструкций, содержащих антигенные эпитопы актуальных аллергенов и сигнальные пептиды, обладающие иммунорегуляторными свойствами. ЕДРИД 25.08.2017.
40. Sanchez-Trincado JL, Gomez-Perosanz M, Reche PA. Fundamentals and Methods for T- and B-Cell Epitope Prediction. *J Immunol Res*. 2017;2680160. DOI: 10.1155/2017/2680160
41. Mishra A, Jain A, Arora N. Mapping B-cell epitopes of major and minor peanut allergens and identifying residues contributing to IgE binding *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2015;2(Vol.96). DOI: 10.1002/jsfa.7121

РЕЗЮМЕ

Алгоритм использования аллергологических тестов

Гареев А.Л.

«Производственная фирма Симеста»

В статье дана характеристика сложившейся практики взаимоотношений врачей-клиницистов с врачами-лаборантами. Прослеживается зависимость в формировании перечня и содержания лабораторных услуг от задач, выдвигаемые клиницистом. Это могут быть тесты, основанные исключительно на экстрактивных маркерах, тесты могут включать компоненты экстрактов, вполне возможно, что в будущем тесты будут эпитопными. Описан процесс резорбции белков во внутреннюю среду макроорганизма. Подчеркнута исключительно важная роль микробиома слизистых и кожи в поступательной деструкции белковых структур. Определяющим является то, что пути проникновения, минуя среду обитания микробиома, не существует. Сделан акцент на том, что аллергологическая реакция возможна только в том случае, при котором деструкция белка не приводит к полному расщеплению до аминокислот, сохранившиеся белковые структуры, проникая во внутреннюю среду, воспринимаются иммунной системой как антиген (аллерген) с последующим запуском каскада гуморальных и клеточных реакций. Это дает основание утверждать, что основой патогенеза аллергологического заболевания является недостаточность факторов деструкции белков, участвующих как со стороны макроорганизма, так и со стороны микробиома. Нормализация функционирования этих

факторов должна привести к выздоровлению аллергологического больного. АСИТ должно рассматриваться как паллиатив. Основным и единственным механизмом резорбции является пассивная диффузия. Оценена определяющая роль степени диссоциации электролитных растворов, создаваемых белковыми молекулами. Микробиом представлен как дополнительный, химерный для макроорганизма орган, роль которого заключается в формировании барьерных, защитных функций, не допускающий проникновение во внутреннюю среду антигенных структур. Делается вывод, что основной задачей врача аллерголога на этапе диагностики должно являться стремление выявить сенсibilизацию к белкам гомологам, составляющих одну группу. Такой подход дает возможность оценить распространение сенсibilизации среди белков гомологов различной природы происхождения, тем самым оценить максимально широко патологический процесс у конкретного больного. Лабораторные тесты производства Симесты учитывают изложенные представления, по этой причине выстроены в систему с продуманной последовательностью использования в зависимости от клинических проявлений и результатов предыдущего исследования. В линейке предложенных присутствуют тесты оригинальной компоновки, не предлагаемые иными производителями. Это линейные блоты, собранные исключительно по групповому признаку, а именно блот «Profilins Polcalcins», блот «PR-10, nsLTP», блот «Storage proteins», блот «Serum albumins, Lipocalins», блот «Tropomyosins». Алгоритм применения тестов разнесен на три уровня, гибко используя с привязкой к конкретной клинической ситуации, у врача клинициста появляется возможность получить максимально возможную информацию при минимальных затратах. Оценивая перспективы развития аллергологии, делается предположение о разработке с последующим внедрением в практику эпитопных тестов, результаты исследования по которым даст возможность с использованием математических инструментов моделировать конструкцию белковой структуры, проникшую во внутреннюю среду. Это позволит определить недостающие факторы деструкции аллергена у конкретного пациента, что выведет на патогенетическое лечение.

Ключевые слова: экстрактивная аллергология, молекулярная аллергология, эпитопная аллергология, гомологические белки-аллергены, перекрестная реактивность, амфотерность белков, диссоциация электролитов, деструкция белков, пассивная диффузия, линейные блоты, аллергологические тесты.

SUMMARY

Algorithm for the use of allergy tests

Gareev A.L.

«Production enterprise Simesta»

The article describes the current practice of the relationship between clinicians and laboratory doctors. The dependence in the formation of the list and content of laboratory services on the tasks put forward by the clinician is traced. These may be tests based solely on extractable markers, tests may include extract compo-

nents, it is possible that in the future the tests will be epitope. The process of protein resorption into the internal environment of a macroorganism is described. The extremely important role of the microbiome of the mucous membranes and the skin in the translational destruction of protein structures is emphasized. The determining factor is that the path of penetration, bypassing the habitat of the microbiome, does not exist. The emphasis is placed on the fact that an allergological reaction is possible only in the case where protein destruction does not lead to complete degradation to amino acids, preserved protein structures, penetrating into the internal environment, are perceived by the immune system as an antigen (allergen) with the subsequent launch of a cascade of humoral and cellular reactions. This suggests that the basis of the pathogenesis of an allergic disease is the insufficiency of protein destruction factors, which are involved both from the macroorganism and from the microbiome. Normalization of the functioning of these factors should lead to the recovery of the allergic patient. ASIT should be considered as a palliative. The main and only resorption mechanism is passive diffusion. The determining role of the degree of dissociation of electrolyte solutions created by protein molecules is estimated. The microbiome is presented as an additional organ, chimeric for a macroorganism, whose role is to form barrier, protective functions, preventing the penetration of antigenic structures into the internal environment. It is concluded that the main task of the allergist doctor at the stage of diagnosis should be the desire to identify sensitization to protein homologs that make up one group. This approach makes it possible to assess the spread of sensitization among proteins of homologs of various nature of origin, thereby assessing the most widespread pathological process in a particular patient. Laboratory tests for the production of Simesta take into account the ideas presented, for this reason they are arranged in a system with a thought-out sequence of use, depending on the clinical manifestations and the results of the previous study. In the line of proposals there are tests of the original layout, not offered by other manufacturers. These are linear blots collected exclusively on a group basis, namely the Profilins Polcalcins blot, the PR-10, nsLTP blot, the Storage proteins blot, the Serum albumins, Lipocalins blot, the Tropomyosins blot. The test application algorithm is divided into three levels, flexibly using with reference to a specific clinical situation, the clinician's doctor has the opportunity to obtain the most possible information at the lowest possible cost. Assessing the prospects for the development of allergology, an assumption is made about the development with subsequent implementation of epitope tests into practice, the results of the study on which will make it possible using mathematical tools to model the structure of the protein structure that has penetrated the internal environment. This will determine the missing factors of the destruction of the allergen in a particular patient, which will lead to pathogenetic treatment.

Keywords: extract allergology, molecular allergology, epitope allergology, homologous allergen proteins, cross-reactivity, protein amphotericity, electrolyte dissociation, protein destruction, passive diffusion, linear blots, allergological tests.

РЕЗЮМЕ

Алгоритм використання алергологічних тестів

Гарєєв А.Л.

«Виробнича фірма Сіместа»

У статті дана характеристика сформованій практиці взаємовідносин лікарів-клініцистів з лікарями лаборантами. Простежується залежність у формуванні переліку та змісту лабораторних послуг від завдань, що висуваються клініцистом. Це можуть бути тести, засновані виключно на екстрактивних маркерах, тести можуть включати компоненти екстрактів, цілком можливо, що в майбутньому тести будуть епітопними. Описано процес резорбції білків у внутрішнє середовище макроорганізму. Підкреслено виключно важливу роль мікробіома слизових і шкіри в поступальній деструкції білкових структур. Визначальним є те, що шляхів проникнення, минаючи середовище проживання мікробіому, не існує. Зроблено акцент на тому, що алергологічна реакція можлива тільки в тому випадку, при якому деструкція білка не приводить до повного розщеплення до амінокислот, на якій залишилися білкові структури, проникаючи у внутрішнє середовище, сприймаються імунною системою як антиген (алерген) з наступним запуском каскаду гуморальних і клітинних реакцій. Це дає підставу стверджувати, що основою патогенезу алергологічного захворювання є недостатність факторів деструкції білків, що беруть участь як з боку макроорганізму, так і з боку мікробіома. Нормалізація функціонування цих факторів повинна привести до одужання алергологічного хворого. АСИТ має розглядатися як паліатив. Основним і єдиним механізмом резорбції є пасивна дифузія. Оцінена визначальна роль ступеня дисоціації електролітичних розчинів, що створюються білковими молекулами. Мікробом представлений як додатковий, химерний для макроорганізму орган, роль якого полягає у формуванні бар'єрних, захисних функцій, який не допускає проникнення у внутрішнє середовище антигенних структур. Робиться висновок, що основним завданням лікаря алерголога на етапі діагностики повинно бути прагнення виявити сенсibilізацію до білків гомологів, що становлять одну групу. Такий підхід дає можливість оцінити поширення сенсibilізації серед білків гомологів різної природи походження, тим самим оцінити максимально широко патологічний процес у конкретного хворого. Лабораторні тести виробництва СІМЕСТА враховують викладені уявлення, з цієї причини вбудовані в систему з продуманою послідовністю використання в залежності від клінічних проявів і результатів попереднього дослідження. У лінійці пропозицій присутні тести оригінального компонування, що не пропонуються іншими виробниками. Це лінійні блоти, зібрані виключно за груповою ознакою, а саме блот «Profilins Polcalcins», блот «PR-10, nsLTP», блот «Storage proteins», блот «Serum albumins, Lipocalins», блот «Tropomyosins». Алгоритм застосування тестів рознесений на три рівні, гнучко використовуючи з прив'язкою до конкретної клінічної ситуації, у лікаря клініциста з'являється можливість отримати максимально можливу інформацію при мінімальних витратах. Оцінюючи перспективи розвитку

алергології, робиться припущення про розробку з подальшим впровадження в практику епітопних тестів, результати дослідження за якими дасть можливість з використанням математичних інструментів моделювати конструкцію білкової структури, що проникла у внутрішнє середовище. Це дозволить визначити відсутні чинники деструкції алергену у конкретного пацієнта, що виведе на патогенетичне лікування.

Ключові слова. Екстрактивні алергологія, молекулярна алергологія, епітопной алергологія, гомологічні білки-аллергенв, перехресна реактивність, амфотерність білків, дисоціація електролітів, деструкція білків, пасивна дифузія, лінійні блоти, алергологічні тести

АВТОРСЬКА ДОВІДКА:

• **Гареев Алексей Леонидович**
Лаборатория «Симеста», г. Одесса, Украина
Контактный тел.: 050-512-94-04
E-mail: alexeygareev@simesta.com

• **Гареев Олексій Леонідович**
Лабораторія «Симеста», м. Одеса, Україна
Контактний тел.: 050-512-94-04
E-mail: alexeygareev@simesta.com

• **Gareev Oleksii**
Simesta Laboratory, Odesa, Ukraine
Contact tel .: 050-512-94-04
Email: alexeygareev@simesta.com

Стаття надійшла до редакції 29.06.2020р.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ЭКСТРАКТА ДИАЛИЗАТА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

МАЛЬЦЕВ Д.В.

Институт экспериментальной и клинической медицины НМУ имени А.А. Богомольца

Вступление. Препараты экстракта диализата лейкоцитов крови являются важным компонентом современной трансферцевтики. Трансферцевтика – это раздел фармацевтики о так называемых трансфер факторах. Общим термином трансфер-фактор обозначают несколько высокоактивных биологических агентов, обладающих иммуномодулирующими, иммунизирующими и иммунозаместительными свойствами, и представляющих собой экстракты иммунных факторов, содержащихся в разных биологических средах организмов – плазме крови, желтках птичьих яиц, молозиве млекопитающих. Терапевтические эффекты, достигаемые при применении трансфер факторов, являются результатом целенаправленного переноса композиции естественных иммунных компонентов какой-либо биологической среды от одного организма к другому. Это разновидность пассивной иммунизации, так как осуществляется трансфер готовых средовых гуморальных иммунных факторов от организмов доноров в организм реципиента. Причем одновременно переносятся как компоненты адаптивного, так и врожденного иммунитета.

Опыт применения трансфер факторов составляет более 60 лет, и начинается с предложения Ф. Лоуренса в 1955 году использовать диализированный экстракт лейкоцитов крови для переноса противоопухолевого иммунитета от здорового организма к больному. Таким образом, диализат лейкоцитов крови является исторически первым трансфер фактором, который начал применяться в широкой клинической практике. На данный момент именно эта форма трансфер фактора имеет наибольшую доказательную базу эффективности и безопасности согласно результатам публикаций в международных наукометрических электронных базах данных рецензируемых периодических изданий PubMed, Embase, SCOPUS. Препарат на основе диализата лейкоцитов крови вошел в международные протоколы лечения первичного иммунодефицита – наследственного кожно-слизистого кандидоза. Помимо этого имеется еще, как минимум, 30 показаний с разной степенью доказательности к клиническому применению такого трансфер-фактора в иммунологии, ин-

фектологии, аллергологии, ревматологии и онкологии, которые будут обсуждены в данной публикации. Настоящий систематический обзор охватывает анализ публикаций, начиная с марта 1962 года, когда была опубликована первая статья о препарате, индексируемая в PubMed, до июня 2019 года, когда вышла последняя на данный момент работа в рецензируемом источнике по изучению эффективности трансфер фактора в клинической практике. До этого нами подготовлено 2 основательных научных обзора по трансферцевтике, которые, без сомнения, помогли в подготовке данной публикации [1, 2].

Механизм действия. Иммунный экстракт диализата лейкоцитов крови – это низкомолекулярный экстракт лейкоцитов, способный переносить из организмов доноров в организм реципиента антиген-специфический иммунитет, опосредуемый Т-лимфоцитами [74]. Этот эффект осуществляется фракцией пептидов с молекулярной массой около 5 kDa (так называемыми антиген-специфическими трансфер факторами, или specific factors transfer SFT), тогда как в целом в состав трансфер фактора входят компоненты с молекулярными массами от 1 до 6 кД [8] или даже до 20 кД [59]. Речь идет как об немедленно реализующемся иммунозаместительном эффекте, опосредуемом цитокинами Th1-профиля и другими факторами иммунитета, содержащимися в препарате, так и развивающемся со временем иммунизирующим эффектом этого биологического агента. Повидимому, иммунизирующий эффект осуществляется за счет наличия в препарате фрагментов антигенов – так называемых иммуногенных пептидов, полученных при процессинге антигена в антиген-презентирующих клетках донора. Вторым объяснением этого феномена является обнаружение в составе трансфер фактора функционально активных фрагментов антиген-распознающих рецепторов Т-лимфоцитов [76]. Это может объяснить известный со времен Ф. Лоуренса феномен переноса иммунной памяти от иммунизированного организма к неиммунному реципиенту при применении трансфер фактора. Кроме того, описан иммунизирующий эффект трансфер фактора по отношению к иммунным факторам, содержащимся в препарате,

например, интерлейкин 2, состоящий в продукции специфических антител в организме реципиента, что может частично объяснить эффективность этого биологического агента при аутоиммунитете, зависящем от продукции указанного цитокина [44].

Продолжением иммунозаместительного воздействия является иммуномодулирующий

эффект трансфер фактора. Считают, что за иммуномодулирующий эффект этого биологического агента ответственна аминокислотная последовательность LLYAQDL/VEDN [39], ассоциированная с олигорибонуклеотидами, которая плотно связывается с рецепторами на чувствительных клетках организма человека – так называемыми transfer receptors, TF [59] (рис. 1).



Рис. 1. Аминокислотная последовательность трансфер фактора LLYAQDL/VEDN, обладающая наиболее выраженными иммуномодулирующими свойствами (по Пшеничной И.)

Jiménez-Uribe A.P. с соавт. в экспериментальном исследовании продемонстрировали, что препарат на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови обеспечивает усиление продукции интерлейкина 6 и экспрессии костимулирующей молекулы CD80

на поверхности макрофагов/моноцитов крови (рис. 2), что усиливает иммунный ответ на микробные патогены путем потенциации антигенной презентации чужеродных иммуногенных пептидов Т-хелперам [35].

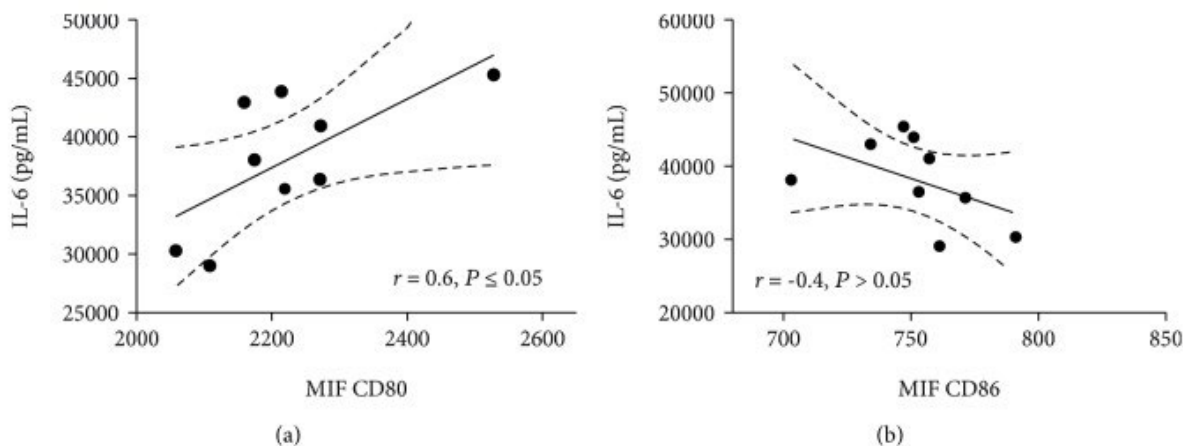


Рис. 2. Усиление выработки интерлейкина 6 и повышение экспрессии костимулирующей молекулы CD80 на поверхности макрофагов/моноцитов под влиянием совместного воздействия липополисахаридов бактерий и трансфер-фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови (Jiménez-Uribe A.P. с соавт.)

Установлено, что трансфер фактор повышает сывороточную концентрацию интерлейкина-2 [57], гамма-интерферона [58], остеопонтина, hBD-2 и RANTES [8], что свидетельствует о потенциации клеточного иммунного ответа, опосредованного Т-хелперами 1 типа. Этот иммуномодулирующий эффект важен для усиления иммунорезистентности к внутриклеточным

микроорганизмам – вирусам, некоторым видам грибов и бактерий, в том числе – микобактерии туберкулеза. Усиление клеточного цитотоксического иммунного ответа полезно и при неоплазиях.

Zajícová A. с соавт. в экспериментальном исследовании продемонстрировала способность трансфер фактора избирательно индуцировать

развитие Th17 с дальнейшей продукцией интерлейкина-17 и модуляцией нейтрофильного воспаления, важного в контроле над бактериальными экстрацеллюлярными микроорганизмами [77]. Эти данные позволяют объяснить результаты клинических исследований об эффективности применения трансфер фактора при бактериальных инфекциях, в частности – хронических поражениях верхних дыхательных путей [8] и персистирующем пиелонефрите [78].

За счет реципрокного подавления иммунных реакций, опосредованной Т-хелперами 2 типа, трансфер фактор может приводить к ослаблению атопических аллергических реакций и некоторых Th2-индуцированных аутоиммунных процессов [31]. При этом трансфер фактор воспроизводит естественный механизм поддержания толерантности к собственным или неопасным чужеродным антигенам, именуемый иммунным отклонением. Эффективность трансфер фактора при некоторых формах Th1-индуцированного аутоиммунитета объясняется его способностью активировать CD4+CD25+ регуляторные Т-лимфоциты, которые являются важными компонентами механизмов достижения периферической иммунной толерантности путем продукции противовоспалительных цитокинов интерлейкина-10 и трансформирующего фактора роста бета, хотя этот эффект поддерживается не всеми исследователями [77].

Трансфер фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови может оказывать как про-, так и противовоспалительные воздействия в зависимости от дозы, режима его применения и текущего состояния организма пациента. Провоспалительные эффекты могут быть полезны при противомикробном и антиопухолевом иммунитете, тогда как противовоспалительное воздействие может помочь в подавлении аллергических и аутоиммунных

реакций. Известно, что трансфер фактор может угнетать продукцию провоспалительного агента С-реактивного белка и снижать общее количество нейтрофилов в крови у пациентов с тяжелым сепсисом [11] и повышать локальную продукцию противовоспалительного цитокина трансформирующего фактора роста бета при осложненном папилломавирусном поражении шейки матки [4]. В то же время, этот биологический агент усиливает продукцию некоторых провоспалительных медиаторов, таких как интерлейкины-2 [57], и -6 [35], что потенцирует воспаление, антимикробный и противоопухолевый клеточный иммунный ответ у иммуносупрессированных пациентов со сниженной иммунореактивностью.

Иммуновоспалительные синдромы. Выраженные противовоспалительные, антимикробные и иммуномодулирующие свойства трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови объясняют положительные результаты испытаний этого биологического агента при некоторых тяжелых иммуновоспалительных поражениях у людей, включая сепсис, саркоидоз и рефрактерный афтозный стоматит.

По данным ретроспективного анализа Castrejón Vázquez M.I. с соавт. с участием 123 пациентов трансфер фактор эффективен при сепсисе у детей. Под влиянием иммунотерапии удалось достичь снижения сывороточной концентрации С-реактивного белка, увеличения ранее сниженного общего количества лимфоцитов и снижения количества нейтрофилов в крови уже через 72 часа после ее начала. Параллельно отмечалось увеличение выживаемости пациентов с сепсисом в группе трансфер фактора при неизменном сроке пребывания в стационаре по сравнению с группой контроля (рис. 3, 4, 5) [11].

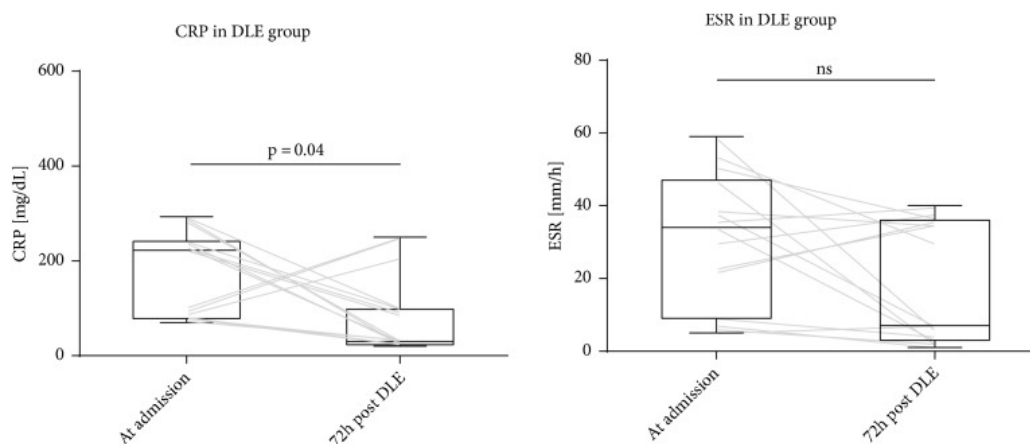


Рис. 3. Снижение сывороточной концентрации С-реактивного белка у детей с сепсисом, пребывающих в отделении интенсивной терапии, уже через 72 часа после применения трансфер фактора на основе экстракта диализата лейкоцитов крови (n=123) (по Castrejón Vázquez M.I. с соавт.)

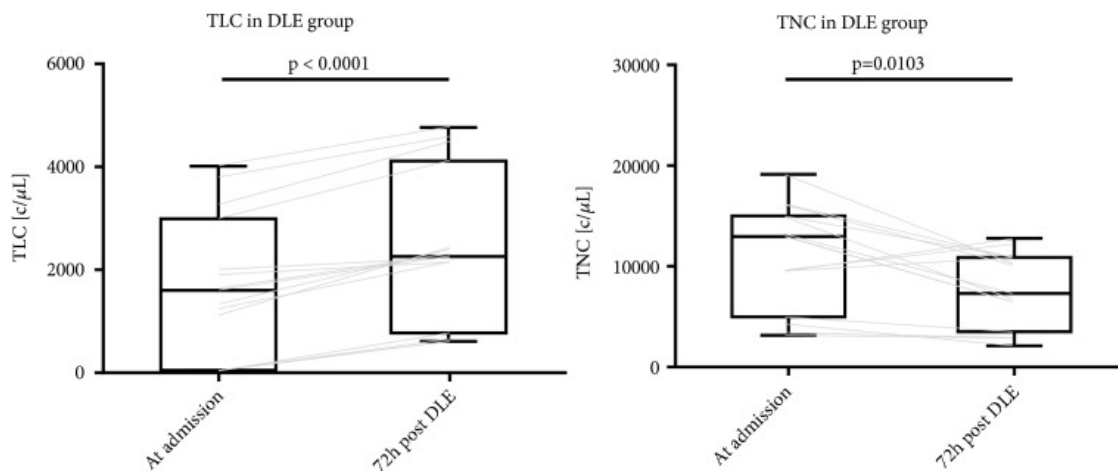


Рис. 4. Повышение общего количества лейкоцитов и снижение общего количества нейтрофилов в крови детей с сепсисом, пребывающих в отделении интенсивной терапии, уже через 72 часа после применения трансфер фактора на основе экстракта диализата лейкоцитов крови (n=123) (по Castrejón Vázquez M.I. с соавт.)

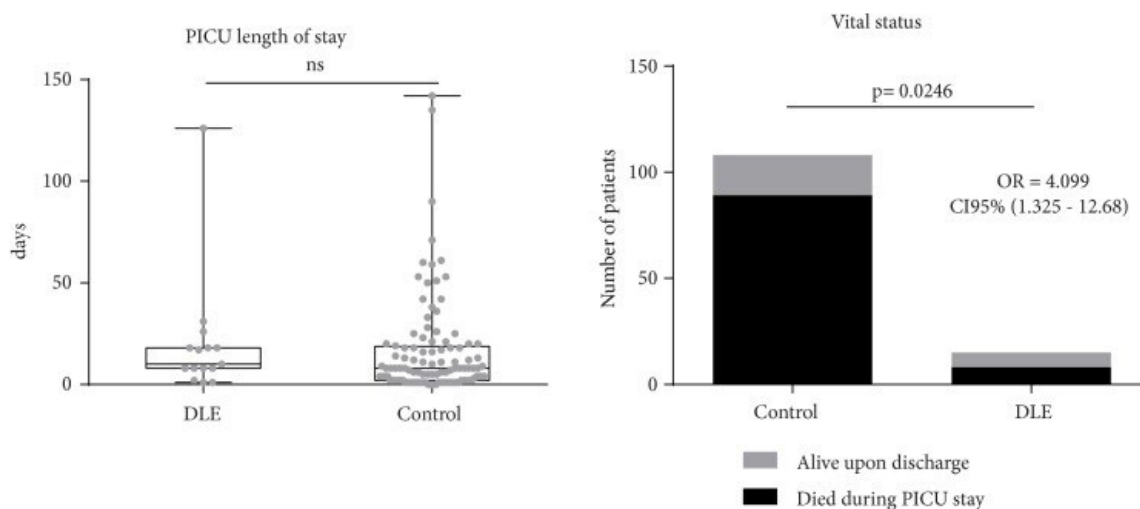


Рис. 5. Увеличение выживаемости при неизменном сроке пребывания в стационаре детей с сепсисом, находящихся в отделении интенсивной терапии, на фоне применения трансфер фактора на основе экстракта диализата лейкоцитов крови (n=123) (по Castrejón Vázquez M.I. с соавт.)

Vezendi S., Schröder I. в клиническом исследовании с участием 59 пациентов установили способность трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови уменьшать проявления легочного саркоидоза у людей, улучшая функцию внешнего дыхания [73].

Также продемонстрирована очевидная польза от применения трансфер фактора при упорно персистирующем афтозном стоматите, резистентном к стандартным терапевтическим подходам, состоящая в более быстром заживлении эрозий на слизистой оболочке ротовой полости и уменьшении частоты рецидивов заболевания [60].

Инфекционные болезни. Противовирусный эффект трансфер фактора связан как с прямыми противомикробными воздействиями некоторых иммунных факторов, содержащихся

в его составе, так и с непрямым иммуномодулирующим влиянием, которое ассоциировано с усилением иммунорезистентности организма-хозяина. Согласно результатам клинических исследований, трансфер фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови более эффективен при инфекциях, вызванных внутриклеточными патогенами, чем при поражениях, индуцированных экстрацеллюлярными агентами, учитывая преимущественное воздействие этого препарата на клеточный иммунитет, являющийся ведущим в иммунном ответе против внутриклеточных микроорганизмов. Кроме того, этот биологический агент более целесообразно назначать при оппортунистических инфекциях, чем при классических инфекционных заболеваниях, так как в первом случае краеугольным камнем являются иммуномодулирующие свойства трансфер фактора, позволяющие

компенсировать причинную иммунную дисфункцию.

Ayala M.C. с соавт. недавно опубликовали ретроспективный 150 анализ клинических случаев применения препаратов трансфер факторов на основе иммунного диализата лейкоцитов крови человеческого или коровьего происхождения за 15-летний период у детей с клеточными иммунодефицитами и связанными с этим тяжелыми, угрожающими жизни инфекциями. Отмечались поражения верхних дыхательных путей (71%), нижних отделов респираторного тракта (43%), дигестивной системы (15%), мочевыделительных органов (15%), нервной системы (4%) и кокцидиоидомикоз (3%). За счет проведенной иммунотерапии достигнуто увеличение ранее сниженного количества Т-лимфоцитов в крови, усиление реакции миграции лимфоцитов в ответ на PPD и варидазу (> 20%), потенцияция интрадермальной инфильтрации лимфоцитами в ответ на локальное введение микробных антигенов ($p < 0,001$). Количество рецидивов тяжелых инфекций резко сократилось до 4% случаев, что указывало на компенсацию состояния почти у всех иммуноскомпрометированных пациентов, получивших трансфер фактор [6].

На данный момент трансфер-фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови продемонстрировал клиническую эффективность при часто рецидивирующем лабиальном и генитальном герпесе [18, 55], кератите, вызванном вирусом простого герпеса 1 типа [43, 54], персистирующей лимфаденопатии герпетической этиологии [57], опоясывающем герпесе [16], цитомегалии [50], инфекции, индуцированной вирусом герпеса 6 типа [3], папилломавирусной инфекции [9], туберкулезе [63, 79], токсоплазмозе (рис. 6) [27], кокцидиоидомикозе [32], кандидозе [61], бластомикозе (рис. 7) [22], лейшманиозе [15, 62], лепре [10], осложненной кори [21], а также – фарингитах, синуситах и среднем отите, вызванных условнопатогенными бактериями [8]. Имеются данные о пользе от применения трансфер фактора при ВИЧ-инфекции в комплексной терапии с антиретровирусными препаратами [57]. Есть указания, что трансфер фактор может способствовать снижению интенсивности боли при постгерпетической невралгии и обеспечивать профилактику осложнений при вакцинации против ветряной оспы [41].

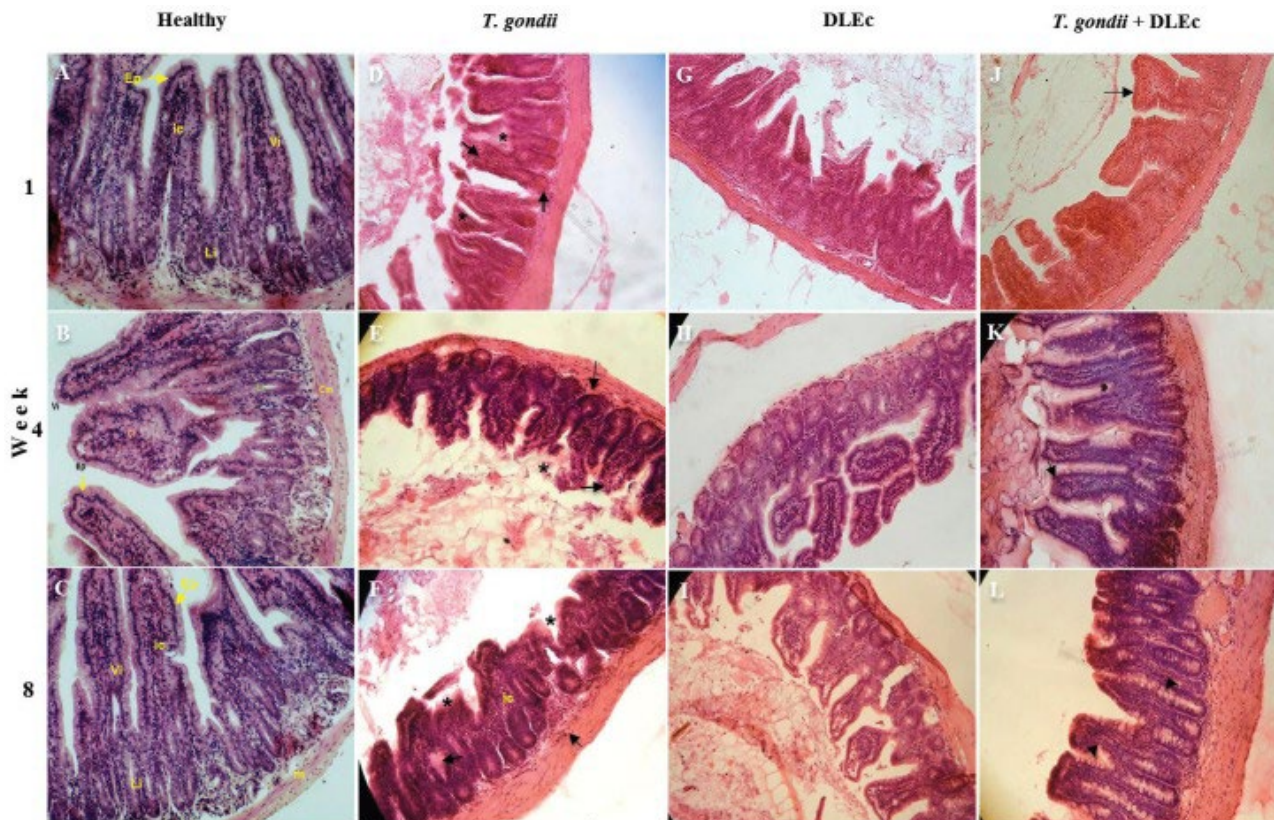


Рис. 6. Гистологическая картина стенки тонкой кишки у здоровых особей, инфицированных токсоплазмозом, при применении трансфер фактора и при токсоплазменной инфекции во время лечения трансфер фактором (по Fuentes-Castro В.Е. с соавт.)

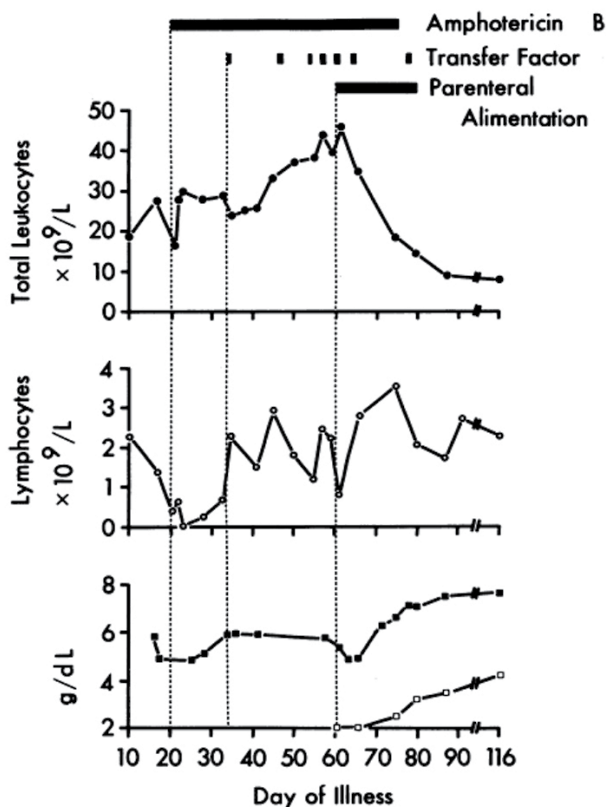


Рис. 7. Увеличение общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в крови, сывороточных концентраций белка (темная линия) и альбумина (светлая линия) при бластомикозе, резистентном к амфотерицину В, после добавления трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови (по FitzSimons R.B. с соавт.)

Pizza G. с соавт. в небольшом клиническом исследовании с участием 44 пациентов показали способность 6-месячного курса иммунотерапии специфическим трансфер фактором, примененным по схеме – на протяжении первых двух недель в/м дважды в неделю, а затем по одной инъекции еженедельно, резко снижать количество обострений лабиального и генитального герпеса, вызванных вирусами простого герпеса 1 и 2 типов, у людей [55]. В другом пилотном клиническом исследовании Pizza G. с соавт. продемонстрировали снижение индекса обострений с уровня 20,1 до 0,51 у пациентов с часто рецидивирующим герпетическим кератитом с дальнейшим рецидивированием патологического процесса лишь у 6 из 33 участников [54]. Estrada-Parra S. в двойном слепом плацебо контролируемом клиническом исследовании с участием 28 пациентов показали клинические и иммунологические преимущества при назначении трансфер фактора по сравнению с ацикловиром при опоясываю-

щем герпесе у людей [19]. Nkrumah F. с соавт. сообщили о быстром регрессе персистирующей лимфаденопатии, вызванной цитомегаловирусом, у маленького ребенка сразу после применения препарата трансфер фактора со специфической антицитомегаловирусной активностью [50]. Ablashi D.V. с соавт. заявили о полном устранении симптомов синдрома хронической усталости, ассоциированного с реактивированной инфекцией, вызванной вирусом герпеса 6 типа, у двух пациентов после применения трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови [3].

Acosta-Rios M.P. с соавт. в плацебо контролируемом клиническом исследовании с участием 48 пациентов продемонстрировали эффективность применения трансфер фактора в 89% случаев у пациентов с хроническим цервицитом или внутриэпителиальной цервикальной неоплазией 1 степени, вызванных папилломавирусами (рис. 8). Анализ полученных при биопсии гистологических образцов до и после лечения продемонстрировал уменьшение лейкоцитарной инфильтрации очагов поражения и признаки разрешения патологического процесса (рис. 9). Иммуногистохимический анализ полученного биоматериала показал повышение локального содержания противовоспалительного цитокина трансформирующего фактора роста бета и параллельное снижение количества провоспалительных агентов IFN- γ , PCNA и IL-32 в зонах вирусного поражения (рис. 10) [4].

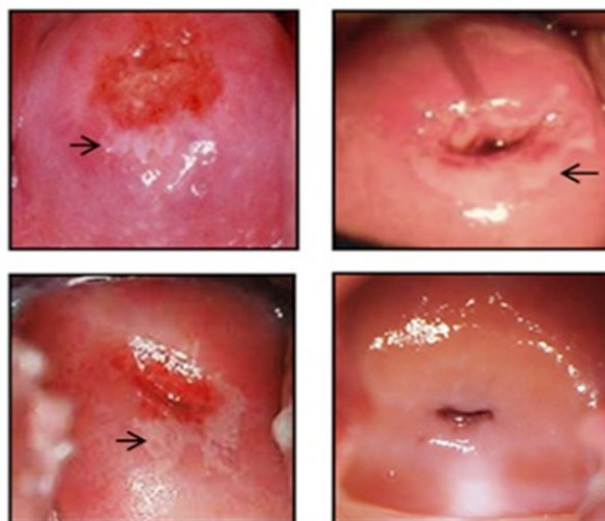


Рис. 8. Динамика кольпоскопической картины до (справа) и после (слева) лечения трансфер-фактором на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови резистентного хронического цервицита, вызванного реактивированной папилломавирусной инфекцией (по Acosta-Rios M.P. с соавт.)

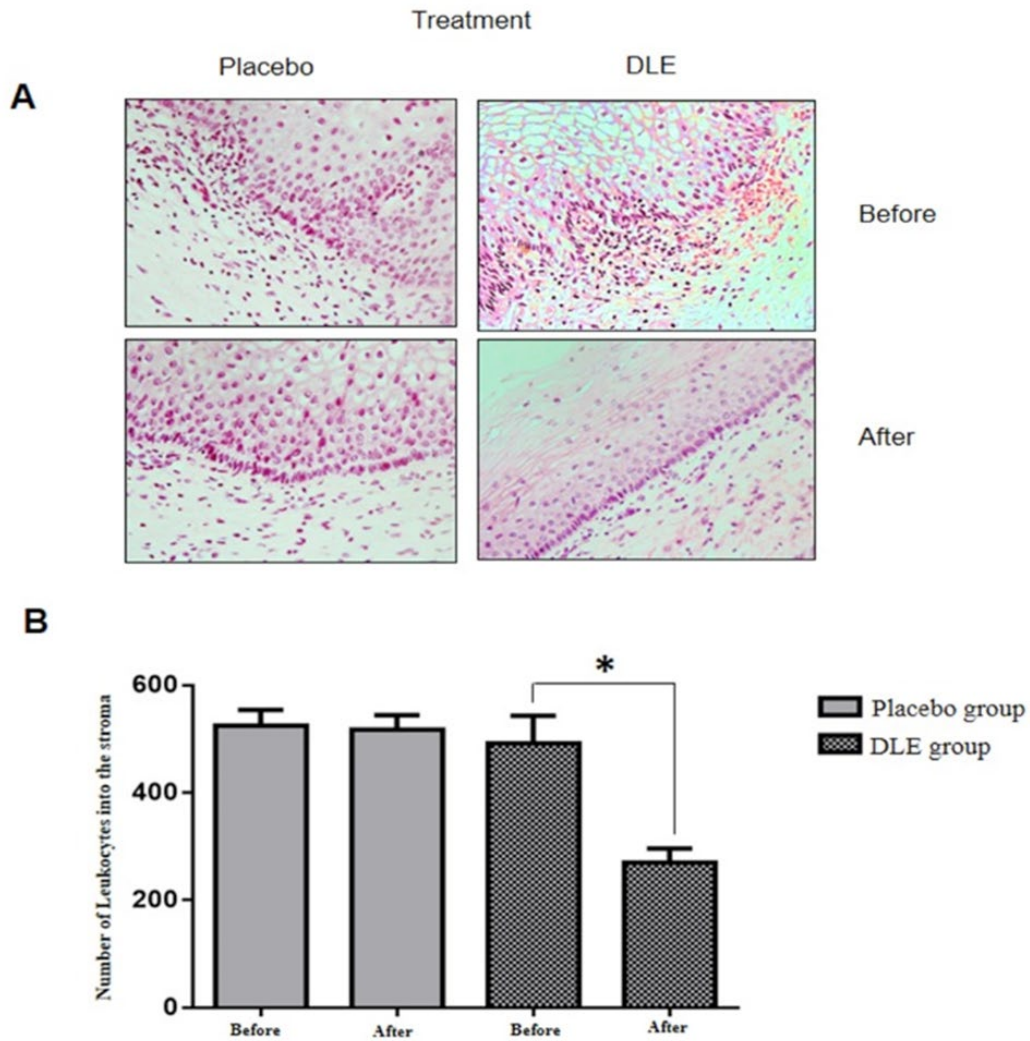


Рис. 9. Динамика лейкоцитарной инфильтрации слизистой оболочки шейки матки по данным гистологического анализа у пациентов с цервицитом, вызванным папилломавирусной инфекцией, во время терапии трансфер-фактором (по Acosta-Rios M.P. с соавт.)

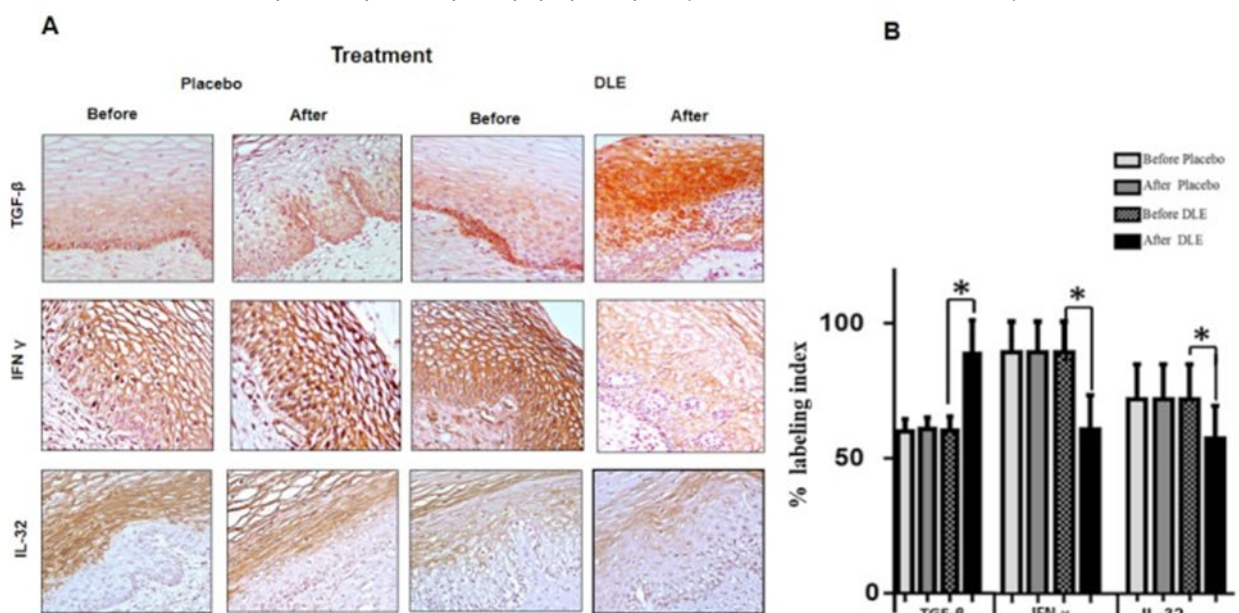


Рис. 10. Динамика локального содержания трансформирующего фактора роста бета, гамма-интерферона и интерлейкина 32 в слизистой оболочке шейки матки у пациентов с цервицитом, вызванным папилломавирусной инфекцией, во время терапии трансфер фактором (по Acosta-Rios M.P. с соавт.)

В другом клиническом исследовании Morfin-Macieł В.М. с соавт. продемонстрировали устранение папилломавирусных поражений гениталий под влиянием трансфер фактора у пациентов с рецидивирующим папилломатозом с достижением ремиссии болезни, как минимум, на 1 год уже после одного курса иммунотерапии [46]. Borkowsky W. с соавт. сообщили о полном регрессе проявлений ларингеального папилломатоза с распространением на легкие у подростка на фоне иммунотерапии трансфер фактором [9].

Согласно данным Zielinski С.С. с соавт. адьювантная иммунотерапия трансфер фактором курсом на протяжении 2-х последовательных лет помогла устранить фистулирующий супринуфицированный туберкулез костей с признаками резистентности к рифампицину, этамбутолу и изониазиду у 9 из 11 пролеченных пациентов [79]. По сообщению Sharma М.К. с соавт. трансфер фактор помог излечить иммуносупрессированного ребенка от прогрессирующей генерализованной БЦЖ-инфекции, развившейся после плановой иммунизации живой аттенуированной вакциной от микобактерии туберкулеза [63].

Vandvik В. с соавт. описали клинический случай эффективного применения трансфер фактора при подостром коревом склерозирующем панэнцефалите [71], в то время как Lankford J. с соавт. показали, что трансфер фактор способен осуществлять профилактику осложнений при иммунизации живой вакциной против ветряной оспы [41].

Zhang J. продемонстрировал, что добавление трансфер фактора к стандартной терапии антибиотиками улучшает исходы при тяжелом пиелонефрите, и клинический эффект иммунотерапии ассоциирован с повышением количества Т-хелперов в крови [78].

Kaminkova J., Lange С.Ф. достигли полной ремиссии болезни у трети пациентов с рецидивирующим средним отитом бактериальной этиологии уже после первого курса иммунотерапии трансфер фактором [36].

Ashorn R. выявил клиническую эффективность иммунотерапии трансфер фактором при аспе vulgaris, состоящую в значительном очищении пораженных кожных покровов от гнойничковой сыпи [5].

Иммунодефицитные заболевания. Трансфер-фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови успешно прошел клинические исследования при некоторых первичных и вторичных иммунодефицитах человека, преимущественно – с нарушениями в клеточном звене иммунитета, учитывая профиль иммуномодулирующего и иммунозаместительного эффектов этого препарата [45, 54].

Если говорить о первичных иммунодефицитах, то этот иммунобиологический агент продемонстрировал эффективность при синдроме Вискотта-Олдрича, наследственном кожно-слизистом кандидозе, гипер-IgE-синдроме, синдроме Чеддиака-Хигаши, некоторых первичных дисиммуноглобулинемиях, избирательном дефиците естественных киллеров, изолированном дефиците CD8+ Т-лимфоцитов и epidermodysplasia verruciformis.

Так, Ramírez-Ramírez D. с соавт. продемонстрировали, что трансфер-фактор приводит к мобилизации стволовых CD34+ клеток из костного мозга, что обеспечивает восстановление клеточного иммунитета. Помимо этого, отмечается увеличение количества CD56+CD16+CD11c+ естественных киллеров в крови и повышение продукции ними гамма-интерферона, усиление опосредованной ними противоопухолевой цитотоксичности и способности стимулировать созревание Т-лимфоцитов слизистых оболочек. Также было установлено, что частично эти эффекты являются непрямыми и осуществляются за счет влияния на Toll-like рецепторы, а частично, по видимому, – за счет прямого влияния на естественные киллеры цитокинов Th1-профиля, содержащихся в препаратах [58].

Wang J.F. с соавт. продемонстрировали способность трансфер фактора воспроизводить клеточный ответ донора, опосредованный цитотоксическими Т-лимфоцитами, в организме реципиента. Это подтверждалось появлением положительного результата кожной пробы на замедленную гиперчувствительность к антигену у ранее несенсибилизированного реципиента после введения ему трансфер-фактора, полученного из крови иммунизированного донора. Этот эффект переноса объяснили наличием бета-цепей антиген-распознающих рецепторов Т-лимфоцитов в препарате. Полученные результаты позволяют считать, что трансфер фактор может быть полезен при избирательном дефиците CD8+ Т-лимфоцитов [76].

Результаты более 20 контролируемых исследований показывают эффективность применения трансфер фактора при наследственном кожно-слизистом кандидозе у людей. Терапевтический эффект объясняют способностью этого биологического агента восстанавливать пораженное клеточное звено иммунитета, важное в контроле над кандидами. Ранее анергичные пациенты развивают положительные результаты реакции кожной замедленной гиперчувствительности с кандидозными диагностикумами, что указывает на восстановление ранее нарушенного специфического антикандидозного иммунного ответа под влиянием трансфер-фактора. В данном обзоре приводим ссылки

на некоторые наиболее значимые клинические испытания при указанном первичном иммунодефиците [61, 69, 70].

Результаты ряда контролируемых клинических исследований демонстрируют пользу от применения трансфер фактора при синдроме Вискотта-Олдрича, клинический фенотип которого включает триаду синдромов: тромбоцитопению/тромбоцитопатию, экзему, комбинированный иммунодефицит [42]. Установлено, что терапия трансфер фактором способствует сокращению количества инфекционных эпизодов при синдроме Вискотта-Олдрича благодаря восстановлению ранее нарушенного клеточного иммунитета. Также имеет место подавление проявлений экземы и уменьшение выраженности спленомегалии [66]. Такие пациенты восстанавливают способность развивать реакции замедленной кожной гиперчувствительности к антигенам, а их пораженные лейкоциты начинают вырабатывать достоверно большее количество миграцию ингибирующего фактора при антигенной стимуляции, чем до момента иммунотерапии [47]. Тем не менее, Ballow M. с соавт. сообщают о развитии аутоиммунной гемолитической анемии во время лечения трансфер фактором пациента с синдромом Вискотта-Олдрича, что указывает на необходимость углубленного анализа иммунного статуса при назначении этого иммунотерапевтического агента у пациентов с первичными иммунодефицитами [7].

Vasily D.B. описали несколько случаев успешного применения трансфер фактора при epidermodysplasia verruciformis [72]. Kesarwala H.H. с соавт. сообщили об эффективности трансфер фактора у двух детей с гипер-IgE-

синдромом [37]. Khan A. с соавт. установили пользу от применения трансфер фактора при синдроме Чеддиака-Хигаши [38]. Chng H.H. при помощи трансфер фактора устранили проявления криптоспоридиоза у 31-летнего пациента с первичной дисиммуноглобулинемией [12].

Впервые пользу от применения трансфер фактора при тяжелых комбинированных иммунодефицитах у детей продемонстрировали Strauss R.G., Hake D.A. в 1975 году [67]. Тем не менее, Gelfand E.W. с соавт. описали лимфо-пролиферацию и поликлональную гаммапатию после применения трансфер фактора при тяжелом комбинированном иммунодефиците [29].

Трансфер фактор прошел ряд контролируемых клинических исследований и при вторичных иммунодефицитах, в том числе – СПИДе ВИЧ-этиологии, иммуносупрессии, вызванной цитостатиками, лучевой терапией и хирургическими операциями. Так, Garritano C.R.O. с соавт. в клиническом исследовании с участием 60 онкологических пациентов, получающих комбинированное лечение, включающее хирургическую операцию, цитостатическую химиотерапию и облучение, показали, что ежедневное сублингвальное применение трансфер-фактора в дозе 0,5 мг в сутки на протяжении 12 месяцев подряд привело к достоверному повышению общего количества лимфоцитов, CD3+ Т-лимфоцитов и CD4+ Т-хелперов в крови. Побочных реакций зарегистрировано не было (рис. 11) [28].

Имеются данные о способности трансфер фактора компенсировать вторичный иммунодефицит, связанный с обширными хирургическими вмешательствами, у неонкологических пациентов, – так называемую посттравматическую иммуносупрессию [56, 75].

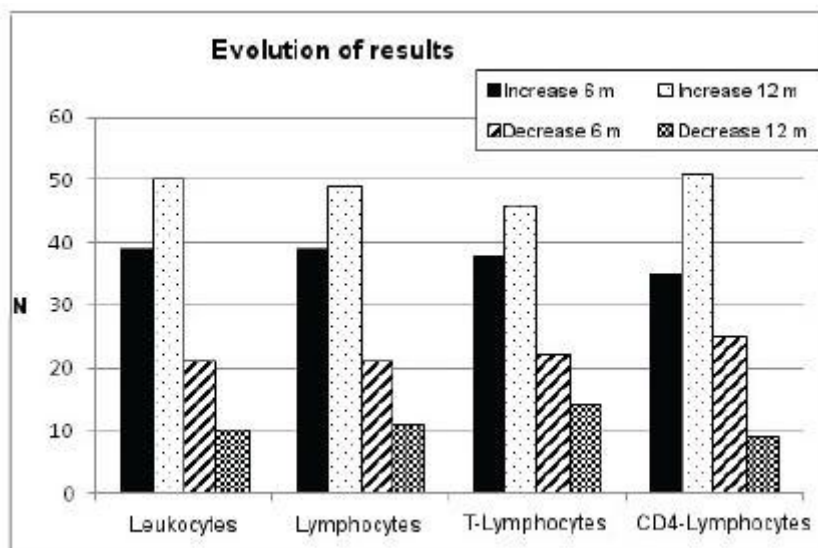


Рис. 11. Динамика количества лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов и Т-хелперов у онкологических пациентов с вторичной иммуносупрессией, прошедших курс иммунотерапии трансфер фактором (по Garritano C.R.O. с соавт.)

Аллергические и аутоиммунные синдромы. Девиация иммунного ответа в сторону иммунных реакций, опосредованных Т-хелперами 1 типа, является основой иммуномодулирующего действия трансфер-фактора при иммунозависимой патологии, связанной с активацией Т-хелперов 2 типа.

Espinosa Padilla S.E. с соавт. в недавнем плацебо контролируемом клиническом исследовании показали пользу от добавления трансфер-фактора к стандартной терапии глюкокортикоидными препаратами у пациентов с умеренной персистирующей бронхиальной астмой. Помимо клинического улучшения в результате проведения иммунотерапии удалось снизить дозу стероидов без ухудшения спирографических показателей функции внешнего дыхания [17]. Тем не менее, результаты более раннего плацебо контролируемого исследования не продемонстрировали пользы от добавления трансфер фактора к стандартной терапии при тяжелой бронхиальной астме, ассоциированной с клеточным иммунодефицитом [68].

В другом клиническом исследовании с участием 121 пациента исследуемой и 88 лиц контрольной группы Flores Sandoval G. с соавт. продемонстрировали пользу от назначения трансфер фактора при умеренном и тяжелом atopическом дерматите. Было достигнуто уменьшение выраженности симптомов болезни согласно индексу SCORAD, снижение сывороточной концентрации IgE и выраженности эозинофилии в крови [21]. Orozco T.T. с соавт. также показали снижение сывороточной концентрации IgE и выраженности эозинофилии у пациентов с умеренным atopическим дерматитом вследствие иммунотерапии трансфер фактором [51]. В сравнительном клиническом исследовании Sosa M. с соавт. трансфер-фактор показал одинаковое с талидомидом свойство снижать выраженность клинических симптомов тяжелого atopического дерматита с лучшим

профилем безопасности терапии, чем у цитостатика [65]. В другом сравнительном исследовании Cordero Miranda M.A. с соавт. показали, что трансфер фактор обеспечивает клинико-иммунологический ответ, сравнимый с таковым у циклоспорина А в дозе 4 мг/кг/сутки, при тяжелом atopическом дерматите у людей [13].

Jautová J. с соавт. в небольшом контролируемом клиническом исследовании установили, что иммунотерапия трансфер фактором приводит к уменьшению проявлений аутоиммунной алопеции, что сопровождается восстановлением клеточного звена иммунитета и снижением ранее повышенной сывороточной концентрации IgM [34].

Franzoni E. с соавт. сообщили о нескольких случаях успешного применения трансфер фактора при резистентных формах болезни Бехчета с обширными кожно-слизистыми поражениями [24].

Georgescu C. в небольшом контролируемом клиническом исследовании с участием 50 пациентов продемонстрировал эффективность трансфер фактора при ревматоидном артрите у людей. Препарат применяли на протяжении 6 месяцев подряд в режиме еженедельных подкожных инъекций [30].

Lamoureux G. с соавт. в небольшом клиническом исследовании показали способность трансфер фактора снижать темп нарастания ликворной концентрации молекул IgG сразу после завершения курса иммунотерапии у пациентов с рецидивирующе-ремиттирующим рассеянным склерозом, что могло указывать на ослабление аутоиммунной реакции, лежащей в основе болезни (рис. 12) [40].

Тем не менее, Foschi F.G. с соавт. сообщили об обострении рассеянного склероза при применении трансфер фактора, что указывает на необходимость тщательного анализа иммунологических данных до и во время указанной иммунотерапии, учитывая многовекторность иммуномодулирующих воздействий последней [24].

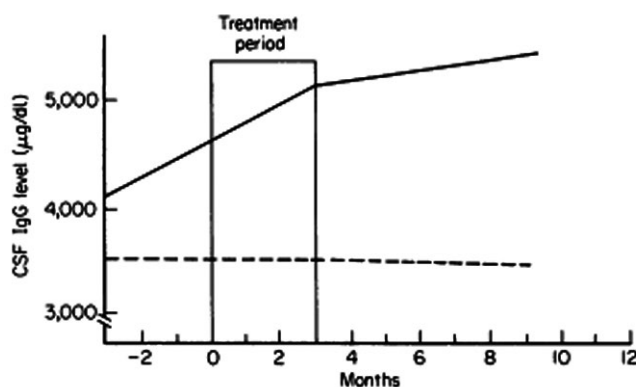


Рис. 12. Постепенное уменьшение темпа нарастания ликворной концентрации молекул IgG сразу после завершения курса иммунотерапии трансфер фактором на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови у пациентов с рецидивирующе-ремиттирующим рассеянным склерозом (по Lamoureux G. с соавт.)

Неврологические болезни. Результаты ряда клинических исследований указывают на пользу от применения трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови при некоторых неврологических заболеваниях с предположительно иммунозависимым механизмом развития.

Так, Simko M. с соавт. сообщают о достижении существенного улучшения со стороны эпилептического синдрома со снижением частоты приступов и достижением положительной динамики ЭЭГ-картины при добавлении трансфер фактора к карбамазепину и примидону у 8 из 10 пациентов [64].

Fudenberg H.H. заявил об улучшении клинического состояния, согласно шкалы SSSA у 21 из 22 детей с расстройствами спектра аутизма после курса иммунотерапии трансфер фактором [26].

Результаты нескольких клинических исследований показывают способность трансфер фактора снижать вирусную активность и уменьшать связанное с ней ощущение слабости у пациентов с синдромом хронической усталости, ассоциированным с цитомегаловирусом, вирусом Эпштейна-Барр [14, 33] и вирусом герпеса 6 типа человека [3].

Nevsimal O. с соавт. добились замедления прогрессирования бокового амиотрофического склероза у 9 из 17 наблюдаемых пациентов, получивших иммунотерапию при помощи трансфер фактора [49].

Онкологический синдром. Эффективность трансфер фактора на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови при онкологических поражениях связывают с активацией клеточного противоопухолевого цитотоксического иммунного ответа, также – с подавлением вирусных онкогенов, что важно в случае вирус-индуцированных неоплазий [48]. На данный момент опубликованы данные нескольких небольших контролируемых клинических испытаний, которые указывают на пользу от добавления трансфер фактора к цитостатическим химиопрепаратам и/или лучевой терапии при некоторых злокачественных новообразованиях, включая гормон-нечувствительный метастатический рак простаты [53], немелкоклеточный рак легких [52], EBV-индуцированные назофарингеальную карциному и лимфому Беркитта [47]. Также показано, что иммунотерапия трансфер фактором может улучшать переносимость и эффективность противоопухолевой цитостатической химиотерапии и уменьшать проявления вторичного иммунодефицита, индуцированного неоплазией и противоопухолевыми препаратами, например, компенсировать миелосупрессию у пациентов с острыми лейкомиями [20].

Выводы. Трансфер фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови – высокоактивный многокомпонентный иммунобиологический агент естественного происхождения, содержащий более 200 низкомолекулярных пептидов, которые являются составляющими иммунной системы организма человека, преимущественно – продуктами синтетической деятельности CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов. Этот биологический препарат обладает иммунозаместительными, иммунизирующими и иммуномодулирующими свойствами. Иммуномодуляция, достигаемая при использовании трансфер фактора, состоит в реализации основного и второстепенного биологических эффектов, которые являются базисом известной терапевтической эффективности препарата. Основной иммуномодулирующий эффект связан с усилением функционирования Т-хелперов 1 типа путем стимуляции продукции цитокинов интерлейкина-2 и гамма-интерферона, что приводит к потенциации клеточных иммунных реакций. Этим иммуномодулирующим воздействием можно объяснить эффективность трансфер фактора при некоторых клеточных и комбинированных первичных и вторичных иммунодефицитах, хронических инфекциях, вызванных интрацеллюлярными микроорганизмами, и злокачественных новообразованиях. Реципрокное снижение функциональной активности Т-хелперов 2 типа приводит к ослаблению атопических аллергических реакций и некоторых видов аутоиммунитета, что объясняет успехи трансфер фактора в аллергологии и ревматологии. Второстепенный иммуномодулирующий эффект препарата связан с усилением работы Т-хелперов 17 типа и связанной с этим потенциацией нейтрофильного воспаления, что важно при лечении бактериальных инфекций, вызванных внеклеточными возбудителями, при которых именно нейтрофилам принадлежит ведущая роль в обеспечении иммунорезистентности организма-хозяина. На данный момент трансфер фактор на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови имеет более, чем 50-летний опыт использования в медицинской практике, входит в международные протоколы лечения семейного кожно-слизистого кандидоза и располагает, как минимум, 30 дополнительными показаниями к клиническому применению с разной степенью доказательности в различных сферах медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мальцев Д.В. Показания к применению трансфер факторов в клинической практике // Імунологія та алергологія: наука і практика. – 2019. – №2. – С. 4–20.

2. Мальцев Д.В. Клиническое применение трансфер факторов на основе экстракта молозива // Імунологія та алергологія: наука і практика. – 2019. – №3. – С. 9–23.
3. Ablashi D.V., Levine P.H., De Vinci C. et al. Use of anti HHV-6 transfer factor for the treatment of two patients with chronic fatigue syndrome (CFS). Two case reports // *Biotherapy*. – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 81–86.
4. Acosta-Rios M.P., Sauer-Ram rez E., Castro-Muñoz L.J. et al. Effect of Dialyzable Leukocyte Extract on chronic cervicitis in patients with HPV infection // *J. Med. Life*. – 2017. – Vol. 10(4). – P. 237–243.
5. Ashorn R., Uotila A., Kuokkanen K. et al. Cellular immunity in acne vulgaris during transfer factor treatment // *Ann. Clin. Res.* – 1985. – Vol. 17(4). – P. 152–155.
6. Ayala M.C., Gonz lez N.M., Palacios G. et al. Dialyzed leukocyte extracts for the treatment of recurrent and severe infections in pediatric patients with cellular immunodeficiency: 15 years of experience // *Rev. Alerg. Mex.* – 2019. – Vol. 66(1). – P. 27–37.
7. Ballow M., Dupont B., Good R.A. Autoimmune hemolytic anemia in Wiskott-Aldrich syndrome during treatment with transfer factor // *J. Pediatr.* – 1973. – Vol. 83(5). – P. 772–780.
8. Berrón-Pérez R., Chávez-Sánchez R., Estrada-García I. et al. Indications, usage, and dosage of the transfer factor // *Rev. Alerg. Mex.* – 2007. – Vol. 54(4). – P. 134–139.
9. Borkowsky W., Martin D., Lawrence H.S. Juvenile laryngeal papillomatosis with pulmonary spread. Regression following transfer factor therapy // *Am. J. Dis. Child.* – 1984. – Vol. 138(7). – P. 667–669.
10. Bullock W.E., Fields J.P., Brandriss M.W. An evaluation of transfer factor as immunotherapy for patients with lepromatous leprosy // *N. Engl. J. Med.* – 1972. – Vol. 287(21) – P. 1053–1059.
11. Castrejón Vázquez M.I., Reséndiz-Albor A.A., Ynga-Durand M.A. et al. Dialyzable Leukocyte Extract (Transferon™) Administration in Sepsis: Experience from a Single Referral Pediatric Intensive Care Unit // *Biomed. Res. Int.* – 2019.- Vol. 2019. – P. 8980506.
12. Chng H.H., Shaw D., Klesius P., Saxon A. Inability of oral bovine transfer factor to eradicate cryptosporidial infection in a patient with congenital dysgammaglobulinemia // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1989. – Vol. 50(3). – P. 402–406.
13. Cordero Miranda M.A., Flores Sandoval G., Orea Solano M. Safety and efficacy of treatment for severe atopic dermatitis with cyclosporin A and transfer factor // *Rev. Alerg. Mex.* – 1999. – Vol. 46(2). – P. 49–57.
14. De Vinci C., Levine P.H., Pizza G. et al. Lessons from a pilot study of transfer factor in chronic fatigue syndrome // *Biotherapy*. – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 87–90.
15. Delgado O., Romano E.L., Belfort E. et al. Dialyzable leukocyte extract therapy in immunodepressed patients with cutaneous leishmaniasis // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1981. – Vol. 19(3). – P. 351–359.
16. Drew W.L., Blume M.R., Miner R. et al. Letter: Herpes zoster: transfer factor therapy // *Ann. Intern. Med.* – 1973. – Vol. 79(5). – P. 747–748.
17. Espinosa Padilla S.E., Orozco S., Plaza A. et al. Effect of transfer factor on treatment with glucocorticoids in a group of pediatric patients with persistent moderate allergic asthma // *Rev. Alerg. Mex.* – 2009. – Vol. 56(3). – P. 67-71.
18. Estrada-Parra S., Chavez-Sanchez R., Ondarza-Aguilera R. et al. Immunotherapy with transfer factor of recurrent herpes simplex type I // *Arch. Med. Res.* – 1995. – Spec No. – S. 87–92.
19. Estrada-Parra S., Nagaya A., Serrano. et al. Comparative study of transfer factor and acyclovir in the treatment of herpes zoster // *Int. J. Immunopharmacol.* – 1998. – Vol. 20 (10). – P. 521–535.
20. Fernandez O., Diaz N., Morales E. et al. Effect of transfer factor on myelosuppression and related morbidity induced by chemotherapy in acute leukaemias // *Br. J. Haematol.* – 1993. – Vol. 84(3). – P. 423–437.
21. Ferrer-Argote V.E., Romero-Cabello R., Hernandez-Mendoza L. et al. Successful treatment of severe complicated measles with non-specific transfer factor // *In Vivo*. – 1994. – Vol. 8(4). – P. 555–557.
22. FitzSimons R.B., Ferguson A.C. Cellular immunity and nutrition in refractory disseminated blastomycosis // *Can Med Assoc J.* – 1978. – Vol. 119(4). – P. 343–346.
23. Flores Sandoval G., Gomez Vera J., Orea Solano M. et al. Transfer factor as specific immunomodulator in the treatment of moderate-severe atopic dematitis // *Rev. Alerg. Mex.* – 2005. – Vol. 52(6). – P. 215–220.
24. Foschi F.G., Marsigli L., Bernardi M. et al. Acute multifocal cerebral white matter lesions during transfer factor therapy // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2000. – Vol. 68(1). – P. 114–115.

25. Franzoni E., Masi M., Conte R. et al. Beh et syndrome: report of two early-onset cases treated with transfer factor // *Ital. J. Neurol. Sci.* – 1984. – Vol. 5(1). – P. 93–96.
26. Fudenberg H.H. Dialysable lymphocyte extract (DLyE) in infantile onset autism: a pilot study // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 143–147.
27. Fuentes-Castro B.E., Reyes-García J.G., Valenzuela-Vargas M.T. et al. Histopathology of murine toxoplasmosis under treatment with dialyzable leukocyte extract // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* – 2017. – Vol. 112(11). – P. 741–747.
28. Garritano C.R.O., Nubil F.D., Couto R.M. et al. Use of transfer factor in immunosuppressed surgical patients // *Rev. Col. Bras. Cir.* – 2017. – Vol. 44(5). – P. 452–456.
29. Gelfand E.W., Baumal R., Huber J. et al. Polyclonal gammopathy and lymphoproliferation after transfer factor in severe combined immunodeficiency disease // *N. Engl. J. Med.* – 1973. – Vol. 289(26). – P. 1385–1389.
30. Georgescu C. Effect of long-term therapy with transfer factor in rheumatoid arthritis // *Medio Interne.* – 1985. – Vol. 23(2). – P. 135–140.
31. Gómez Vera J., Chávez Sánchez R. et al. Transfer factor and allergy // *Rev. Alerg. Mex.* – 2010. – Vol. 57(6). – P. 208–214.
32. Graybill J.R., Silva J.Jr., Alford R.H., Thor D.E. Immunologic and clinical improvement of progressive coccidioidomycosis following administration of transfer factor // *Cell. Immunol.* – 1973. – Vol. 8(1). – P.120–135.
33. Hana I., Vrubel J., Pekarek J., Cech K. The influence of age on transfer factor treatment of cellular immunodeficiency, chronic fatigue syndrome and/or chronic viral infections // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 91–95.
34. Jautová J., Jarcusková D., Dubivská M., Ficová M. Immunostimulation therapy in patients with alopecia areata // *Bratis. Lek. Listy.* – 1995. – Vol. 96(3). – P. 160–164.
35. Jim nez-Uribe A.P., Valencia-Mart nez H., Carballo-Uicab G. et al. CD80 Expression Correlates with IL-6 Production in THP-1-Like Macrophages Costimulated with LPS and Dialyzable Leukocyte Extract (Transferon®) // *J. Immunol. Res.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 2198508.
36. Kaminkova J., Lange C.F. Transfer factor and repeated otitis media // *Cell. Immunol.* – 1984. – Vol. 89(1). – P. 259–264.
37. Kesarwala H.H., Prasad R.V., Szep R. et al. Transfer factor therapy in hyperimmunoglobulinaemia E syndrome // *Clin. Exp. Immunol.* – 1979. – Vol. 36(3). – P. 465–472.
38. Khan A., Hill J.M., Loeb E., MacLellan A., Hill N.O. Management of Chédiak-Higashi syndrome with transfer factor // *Am J. Dis. Child.* – 1973. – Vol. 126(6). – P. 797–799.
39. Kirkpatrick C.H., Rich R.R., Smith T.K. Effect of transfer factor on lymphocyte function in anergic patients // *J. Clin. Invest.* – 1972. – Vol. 51(11). – P. 2948–2958.
40. Lamoureux G., Cosgrove J., Duquette P. et al. A clinical and immunological study of the effects of transfer factor on multiple sclerosis patients // *Clin. Exp. Immunol.* – 1981. – Vol. 43(3). – P. 557–564.
41. Lankford J., Humphrey G.B., Grooms A.M. et al. Role of transfer factor in treating complications of smallpox vaccination // *J. Okla. State Med. Assoc.* – 1973. – Vol. 66(1). – P. 7–8.
42. Levin A.S., Spittler L.E., Stites D.P., Fudenberg H.H. Wiskott-Aldrich syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1970. – Vol. 67(2). – P. 821–828.
43. Meduri R., Campos E., Scorolli L. et al. Efficacy of transfer factor in treating patients with recurrent ocular herpes infections // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 61–66.
44. Mellado-Sánchez G., Lázaro-Rodríguez J.J., Avila S. et al. Development of Functional Antibodies Directed to Human Dialyzable Leukocyte Extract (Transferon®) // *J. Immunol. Res.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 2754920.
45. Misarová Z., Kynclová S., Nováková J. et al. Transfer factor in the treatment of children with disorders of cellular immunity // *Cesk. Pediatr.* – 1985. – Vol. 40(6). – P. 346–349.
46. Morfin-Maciel B.M., Sotelo-Ortiz J.M. Transfer factor effectiveness patients with persistent genital human papillomavirus infection // *Rev. Alerg. Mex.* – 2012. – Vol. 59(3). – P. 97–106.
47. Neequaye J., Viza D., Pizza G. Specific transfer factor with activity against Epstein-Barr virus reduces late relapse in endemic Burkitt's lymphoma // *Anticancer Res.* – 1990. – Vol.10(5A). – P. 1183–1187.
48. Neidhart J.A., LoBuglio A.F. Transfer factor: Potential for therapy of malignant diseases // *Arch. Otolaryngol.* – 1975. – Vol. 101(11). – P. 664–666.
49. Nevs mal O., Pekárek J., Koubek K. et al. Low-molecular transfer factor and its use in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis // *Cesk. Neurol. Neurochir.* – 1991. – Vol. 54(4). – P. 220–222.

50. Nkrumah F., Pizza G., Viza D., et al. Regression of progressive lymphadenopathy in a young child with acute cytomegalovirus (CMV) infection following the administration of transfer factor with specific anti-CMV activity // *Lymphokine Res.* – 1985. – Vol. 4(3). – P. 237–241.
51. Orozco T.T., Solano M.O., Sandoval G.F. Inflammatory mediators in patients with atopic dermatitis after treatment with transfer factor // *Rev. Alerg. Mex.* – 2004. – Vol. 51(4). – P. 151–154.
52. Pilotti V., Mastroianni M., Pizza G. et al. Transfer factor as an adjuvant to non-small cell lung cancer (NSCLC) therapy // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 117–121.
53. Pizza G., De Vinci C., Cuzzocrea D. et al. A preliminary report on the use of transfer factor for treating stage D3 hormone-unresponsive metastatic prostate cancer // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 123–132.
54. Pizza G., Meduri R., De Vinci C. et al. Transfer factor prevents relapses in herpes keratitis patients: a pilot study // *Biotherapy.* – 1994. – Vol. 8(1). – P. 63–68.
55. Pizza G., Viza D., De Vinci C. et al. Orally administered HSV-specific transfer factor (TF) prevents genital or labial herpes relapses // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 67–72.
56. Prcha M., Limberk B. Secondary post-traumatic immunodeficiency syndrome in patients in the anesthesiology-resuscitation department. Possibilities of immunomodulation therapy // *Cesk. Epidemiol Mikrobiol. Imunol.* – 1992. – Vol. 42(3). – P. 116–120.
57. Raise E., Guerra L., Viza D. et al. Preliminary results in HIV-1-infected patients treated with transfer factor (TF) and zidovudine (ZDV) // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 49–54.
58. Ramírez-Ramírez D., Vadillo E., Arriaga-Pizano L.A. Early Differentiation of Human CD11c+NK Cells with $\gamma\delta$ T Cell Activation Properties Is Promoted by Dialyzable Leukocyte Extracts // *J. Immunol. Res.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 4097642.
59. Sánchez-González D.J., Sosa-Luna C.A., Vásquez-Moctezuma I. et al. Transfer factors in medical therapy // *Med. Clin. (Barc).* – 2011. – Vol. 137(6). – P. 273–277.
60. Schulkind M.L., Heim L.R., South M.A. et al. A case report of the successful treatment of recurrent aphthous stomatitis with some preparations of orally administered transfer factor // *Cell. Immunol.* – 1984. – Vol. 84(2). – P. 415–421.
61. Schulking M.L., Adler W.H., Altemeier W.A. Transfer factor in the treatment of a case of chronic mucocutaneous candidiasis // *Cell. Immunol.* – 1972. – Vol. 3(4) – P. 606–615.
62. Sharma M.K., Anaraki F., Ala F. Preliminary results of transfer factor therapy of persistent cutaneous leishmania infection // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1979. – Vol. 12(2). – P. 183–190.
63. Sharma M.K., Foroozanfar N., Ala F.A. Progressive BCG infection in an immunodeficient child treated with transfer factor // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1978. – Vol. 10(4). – P. 369–380.
64. Simko M., Mokrán V., Nyulassy S. Immunomodulatory therapy of epilepsy with transfer factor // *Bratisl Lek Listy.* – 1997. – Vol. 98(4). – P. 234–237.
65. Sosa M., Flores G., Estrada S. Comparative treatment between thalidomide and transfer factor in severe atopic dermatitis // *Rev. Alerg. Mex.* – 2001. – Vol. 48(2). – P. 56–64.
66. Spitler L.E., Levin A.S., Stites D.P. The Wiskott-Aldrich syndrome. Results of transfer factor therapy // *J. Clin. Invest.* – 1972. – Vol. 51(12) – P. 3216–3224.
67. Strauss R.G., Hake D.A. Letter: Combined immunodeficiency and transfer factor // *J. Pediatr.* – 1975. – Vol. 86(5). – P. 818–819.
68. Vald s Nchez A.F., Martín Rodríguez O.L., Lastra Alfonso G. Treatment of extrinsic bronchial asthma with transfer factor // *Rev. Alerg. Mex.* – 1993. – Vol. 40(5). – P. 124–131.
69. Valdimarsson H., Wood C.B., Hobbs J.R., Holt R.J. Immunological features in a case of chronic granulomatous candidiasis and its treatment with transfer factor // *Clin. Exp. Immunol.* – 1972. – Vol. 11(2). – P.151–163.
70. Valdimarsson H., Wood C.B., Hobbs J.R., Holt R.J. Immunological studies in chronic granulomatous candidiasis and the effect of treatment with dialysable transfer factor // *Arch. Dis. Child.* – 1972. – Vol. 47(254). – P. 670.
71. Vandvik B., Froland S.S., Hoyeraal H.M. et al. Immunological features in a case of subacute sclerosing panencephalitis treated with transfer factor // *Scand. J. Immunol.* – 1973. – Vol. 2(4). – P. 367–374.
72. Vasily D.B., Miller O.F., Fudenberg H.H. et al. Epidermodysplasia verruciformis: response to therapy with dialyzable leukocyte extract (transfer factor) derived from household contacts // *J. Clin. Lab. Immunol.* – 1984. – Vol. 14(1). – P. 49–57.
73. Vezendi S., Schröder I. Transfer factor therapy of thoracic sarcoidosis // *Allergol. Immunopathol. (Madr).* – 1989. – Vol. 17(1). – P. 35–37.

74. Viza D., Fudenberg H.H., Palareti A. et al. Transfer factor: an overlooked potential for the prevention and treatment of infectious diseases. // *Folia Biol. (Praha)*. – 2013. – Vol. 59(2). – P. 53–67.
75. Vrabel J., Hána I. Treatment of cellular immunodeficiency in diseases requiring surgery // *Cesk. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* – 1993. – Vol. 42(2). – P. 93.
76. Wang J.F., Park A.J., Rendini T., Levis W.R. Lawrence Transfer Factor: Transference of Specific Immune Memory by Dialyzable Leukocyte Extract from a CD8+ T Cell Line // *J. Drugs. Dermatol.* – 2017. – Vol. 16(12). – P. 1198–1206.
77. Zajícová A., Javorková E., Trošan P. et al. A low-molecular-weight dialysable leukocyte extract selectively enhances development of CD4⁺RORγt⁺ T cells and IL-17 production // *Folia Biol. (Praha)*. – 2014. – Vol. 60(6). – P. 253–260.
78. Zhang J. Cell-mediated immunity in chronic pyelonephritis // *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. – 1990. – Vol. 10(7). – P. 402–403.
79. Zielinski C.C., Savoini E., Ciotti M. et al. Dialyzable leukocyte extract (transfer factor) in the treatment of superinfected fistulating tuberculosis of the bone // *Cell Immunol.* – 1984. – Vol. 84(1). – P. 200–205.

РЕЗЮМЕ

Показания к применению экстракта диализата лейкоцитов крови в клинической практике

Мальцев Д.В.

Институт экспериментальной и клинической медицины
НМУ имени А.А. Богомольца

Опыт применения трансфер факторов в медицине составляет более 60 лет, и начинается с предложения Ф. Лоуренса в 1955 году использовать диализованный экстракт лейкоцитов крови для переноса противоопухолевого иммунитета от иммунизированного организма к неиммунному.

Препараты иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови являются важным компонентом современной трансферцевтики. Это высокоактивный многокомпонентный иммунобиологический агент естественного происхождения, содержащий более 200 низкомолекулярных пептидов, которые являются составляющими иммунной системы организма человека, преимущественно – продуктами синтетической деятельности CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов.

Этот биологический препарат обладает иммунозаместительными, иммунизирующими и иммуномодулирующими биологическими свойствами, которые реализуются неразрывно друг от друга, обеспечивая известные противинфекционные, про-/антивоспалительные, толерогенные, иммуноактивирующие

и противоопухолевые терапевтические эффекты трансфер фактора.

Препарат на основе иммунного экстракта диализата лейкоцитов крови вошел в современные международные протоколы лечения первичного иммунодефицита – наследственного кожно-слизистого кандидоза. Помимо этого, на данный момент имеется еще, как минимум, 30 показаний с разной степенью доказательности к клиническому применению такого трансфер-фактора в иммунологии, инфектологии, аллергологии, ревматологии и онкологии.

Основной иммуномодулирующий эффект препарата связан с усилением функционирования Т-хелперов 1 типа путем стимуляции продукции цитокинов интерлейкина-2 и гамма-интерферона, что приводит к потенциации клеточных иммунных реакций. Этим иммуномодулирующим воздействием можно объяснить эффективность трансфер фактора при некоторых клеточных и комбинированных первичных и вторичных иммунодефицитах, хронических инфекциях, вызванных интрацеллюлярными микроорганизмами, и злокачественных новообразованиях. Реципрокное снижение функциональной активности Т-хелперов 2 типа приводит к ослаблению атопических аллергических реакций и некоторых видов аутоиммунитета, что объясняет некоторые успехи трансфер фактора в аллергологии и ревматологии.

Ключевые слова: трансфер фактор, диализат лейкоцитов крови, иммунотерапия.

РЕЗЮМЕ

Показання до застосування екстракту діалізату лейкоцитів крові в клінічній практиці

Мальцев Д.В.

Інститут експериментальної і клінічної медицини
НМУ імені О.О. Богомольця

Досвід застосування трансфер факторів в медицині становить понад 60 років, і починається з пропозиції Ф. Лоуренса в 1955 році використовувати діалізований екстракт лейкоцитів крові для перенесення протипухлинного імунітету від імунізованого організму до неімунного.

Препарати імунного екстракту діалізату лейкоцитів крові є важливим компонентом сучасної трансферцевтики. Це високоактивний багатоконпонентний імунобіологічний агент природного походження, що містить більше 200 низкомолекулярних пептидів, які є складовими імунної системи організму людини, переважно – продуктами синтетичної діяльності CD8⁺ цитотоксичних Т-лімфоцитів.

Цей біологічний препарат володіє імунозамісними, імунізуючими та імуномодулюючими біологічними властивостями, які реалізуються нерозривно один від одного, забезпечуючи відомі протиінфекційні, про-/антизапальні, толерогенні, імуноактиваційні і протипухлинні терапевтичні ефекти трансфер фактора.

Препарат на основі імунного екстракту діалізату лейкоцитів крові увійшов в сучасні міжнародні протоколи лікування первинного імунодефіциту – спадкового шкірно-слизового кандидозу. Крім цього, на

даний момент є ще, як мінімум, 30 показань з різним ступенем доказовості для клінічного застосування такого трансфер фактора в імунології, інфектології, алергології, ревматології та онкології.

Основний імуномодулюючий ефект препарату пов'язаний з посиленням функціонування Т-хелперів 1 типу шляхом стимуляції продукції цитокінів інтерлейкіну-2 і гамма-інтерферону, що призводить до потенціації клітинних імунних реакцій. Цим імуномодулюючим впливом можна пояснити ефективність трансфер фактора при деяких клітинних і комбінованих первинних і вторинних імунодефіцитах, хронічних інфекціях, викликаних інтрацелюлярними мікроорганізмами, і злоякісних новоутвореннях. Реципрокне зниження функціональної активності Т-хелперів 2 типу призводить до послаблення atopічних алергічних реакцій і деяких видів аутоімунітету, що пояснює деякі успіхи трансфер фактора в алергології та ревматології.

Ключові слова: трансфер фактор, діалізат лейкоцитів крові, імуноterapia.

SUMMARY

Indicative to the use of leukocyte dialysate extract in clinical practice

Maltsev D. V.

Institute of Experimental and Clinical Medicine at National O. Bogomolets Medical University

Experience in the use of factor transfer in medicine is more than 60 years, and begins with the proposal of F. Lawrence in 1955 to use dialysed leukocyte blood extract to transfer antitumor immunity from the immunized body to non-immune.

Preparations of immune extract of leukocyte dialysate are an important component of modern science

about transfer factors. It is a highly active multicomponent immunobiological agent of natural origin, containing more than 200 low molecular weight peptides, which are components of the immune system of the human body, mainly – products of synthetic activity of CD8+ cytotoxic T-lymphocytes.

This biological preparation has immunosubstitutive, immunizing and immunomodulatory biological properties, which are implemented inseparably from each other, providing known anti-infectious, pro-/anti-inflammatory, tolerogenic, immunoactivating and antitumor therapeutic effects.

The drug based on the immune extract of leukocytes dialysate is included in the modern international protocols for the treatment of primary immunodeficiency – hereditary skin and mucous candidiasis. In addition, at the moment there are at least 30 more indications with varying degrees of evidence for the clinical use of such transfer factors in immunology, infectology, allergology, rheumatology and oncology.

The main immunomodulatory effect of the drug is associated with increased functioning of T-helpers type 1 by stimulating the production of cytokines interleukin-2 and gamma-interferon, which leads to the potentiation of cellular immune response. This immunomodulatory effect can be explained by the efficacy of transfer factor in some cellular and combined primary and secondary immunodeficiencies, chronic infections caused by intracellular microorganisms, and various malignancies. The reciprocal decrease in functional activity of T-helpers type 2 leads to attenuation of atopical allergic reactions and some types of autoimmunity, which explains moderate success of transfer factor in allergology and rheumatology.

Key words: transfer factor, dialysate of blood leukocytes, immunotherapy.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• **Мальцев Дмитро Валерійович**

Інститут експериментальної і клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, зав. лабораторією імунології і молекулярної біології

Адреса: 01601, просп. Перемоги, 34, Київ, Україна

Тел.: (068)100-85-95

E-mail: dmaltsev@ukr.net

• **Мальцев Дмитрий Валерьевич**

Інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені А.А. Богомольця, зав. лабораторією імунології і молекулярної біології

Адрес: 01601, просп. Победы, 34, г. Киев, Україна

Тел.: (068) 100-85-95

E-mail: dmaltsev@ukr.net

• **Maltsev Dmytro**

Experimental and Clinical Medicine Institute at the O.O. Bohomolets National Medical University

Address: 34 Peremohy ave., Kyiv 01601, Ukraine

Tel.: (068) 100-85-95

E-mail: dmaltsev@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 05.05.2020р.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЭСБЕРИТОКС НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ 2D-ПОЗИТИВНЫХ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК (NKG2D) И ИНТЕРФЕРОНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВОМ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

¹КУРЧЕНКО А.И., ²ПШЕНИЧНАЯ И.В.

¹Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г.Киев

²Клиника иммунологии и аллергологии «Форпост», г.Киев

Рецидивирующие формы герпесвирусной инфекции I и II типа встречаются, по данным различных авторов, у 15-30% людей трудоспособного возраста. Их развитие напрямую связано с нарушением клеточных и гуморальных механизмов иммунологической резистентности, в частности с дефектами цитокинового профиля. Наиболее изучена система интерферонов, которая обеспечивает как прямой противовирусный эффект, так и активацию защитных механизмов непораженных клеток. Однако, помимо интерферонов, в механизмах противовирусной защиты участвуют и другие цитокины (IL-1 β , IL-2, TNF α , IL-12, IL-18), действие которых реализуется через активацию клеток-продуцентов интерферонов, прежде всего естественных киллеров и плазмацитоидных дендритных клеток и общую регуляцию цитокинового каскада [2, 4].

У ряда цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6 и IL-12) описан прямой противовирусный эффект. Множественные и многоуровневые биологические эффекты цитокинов суммируются с формированием так называемой совокупной противовирусной защиты. Нарушение баланса цитокиновой системы, в частности доминирование цитокинов, продуцируемых Th2-лимфоцитами (IL-4, IL-10, IL-13), рассматривается как предрасполагающий фактор повышенной чувствительности к инфекции, вызванной вирусом простого герпеса (ВПГ). В то же время, хотя роль цитокинов в формировании устойчивости к ВПГ несомненна, особенности функционирования системы цитокинов при часто рецидивирующей герпесвирусной инфекции исследованы мало и преимущественно при латентной форме заболевания. Несомненный интерес в этой связи представляет изучение патогенетически обоснованной возможности проведения коррекции не только интерферонзависимых (альфа, гамма) и цитокиновых изменений, но и состояния функциональной активности 2D-позитивных натуральных киллерных клеток [1, 2, 7].

Известные методы этиотропной терапии ВПГ часто не позволяют достичь желаемых результатов. Элиминирование вируса из организма на данный момент развития науки не представляется возможным вследствие уникальной способности герпес вирусов формировать состояние латентности в нейронах регионарных ганглиев. Если элиминировать вирус невозможно, то необходимо добиться контроля над инфекцией, что затруднено функциональной иммунологической недостаточностью, возникающей вследствие длительной персистенции вируса. Широкое применение ациклических нуклеозидов полностью не решило данную проблему, частые рецидивы определяют необходимость патогенетического лечения, направленного на коррекцию дефектов иммунного ответа.

Ключевыми факторами естественной противовирусной резистентности являются интерфероны (IFN) I типа, которые обладают как прямым противовирусным, так и иммуномодулирующим действием. ВПГ-1 и -2 типа являются мощными индукторами выработки IFN I типа, в частности интерферон альфа (α -IFN), мононуклеарными клетками (МНК) крови. Основными продуцентами IFN I типа среди МНК являются плазмацитоидные дендритные клетки, которые распознают ВПГ с помощью рецептора TLR9 [3]. Известно, что при часто рецидивирующей инфекции ВПГ имеется дефицит выработки IFN I типа мононуклеарными клетками крови. Более того, врожденный дефект генов (UNC93B, TLR3), отвечающих за индукцию выработки IFN I типа проявляется именно тяжелым протеканием инфекции, вызванной ВПГ. Все эти данные послужили теоретической основой для ряда успешных клинических испытаний препаратов IFN I типа и индукторов IFN при часто рецидивирующей инфекции ВПГ. Однако эти препараты оказались эффективными не у всех пациентов. Иммунологическая недостаточность у пациентов с часто рецидивирующей инфекции ВПГ

может быть вызвана не только недостаточностью интерфероногенеза, но и снижением ответа иммунокомпетентных клеток на цитокины. Так, известно, что некоторые белки ВПГ могут ингибировать ответ ряда клеточных линий на возможность продуцировать α -IFN. В клетках, инфицированных ВПГ, ингибируется передача активационного сигнала от рецептора к IFN α/β в ядро, что приводит к подавлению ответа клеток на α -IFN. Эффект связан, в частности, с нарушением активации Jak/STAT-сигнального пути. По данным ряда исследований, при часто рецидивирующей инфекции ВПГ имеет место снижение цитотоксической активности и функциональной активности NK-клеток. NK-клетки способны к цитолизу вирус-инфицированных клеток без предшествующей активации. Однако IFN I типа, продуцируемые в ответ на инфекцию, резко повышают цитотоксичность NK-клеток, являясь мощными активаторами NK-клеток. NKG2D является классическим активационным рецептором NK-клеток. Лигандами NKG2D служат структурные гомологи HLA-A и HLA-B — молекулы MICA и MICB, а также UL-16 связывающие белки (ULBP), которые являются рецептором для антигена UL-16 цитомегаловируса [2,5,6].

Цель исследования.

Оценить изменения функциональной активности 2D-позитивных натуральных киллерных клеток (NKG2D) и интерферонового статуса у больных с рецидивом герпесвирусной инфекции под влиянием препарата Эсберитокс.

Материалы и методы.

Исследовано 30 пациентов в возрасте 22-45 лет с часто рецидивирующим лабиальным герпесом, верифицированным ранее методом ПЦР. Длительность заболевания составляла от 2 до 7 лет. Частота обострений на момент исследования составляла 6 ($5,3 \pm 1,4$) и более раз в год. Пациенты первично обследовались в пределах 24 часов от момента появления высыпаний.

Терапия: таблетки Эсберитокс по 2 таб. x 3 раза в день и таблетированный Валацикловир в суточной дозировке 1 грамм на протяжении 7 дней. На 5 и 10 день лечения лабораторные исследования повторяли. Контрольную группу составили 10 пациентов, получающие только таблетированный Валацикловир.

Исследуемый материал – кровь и сыворотка крови.

Кровь отбирали в вакуумные пробирки с K2EDTA, и методом проточной цитометрии анализировали экспрессию CD314 (PE, BD Biosciences) на поверхности CD3-CD56 (FITC, BD Biosciences) лимфоцитов (на проточном цитофлюориметре EPICS XL (Beckman Coulter).

Содержание цитокинов (α -IFN и γ -IFN) в супернатантах определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест систем фирмы "IBL" (Германия). Мононуклеарные клетки в количестве $1,5 \times 10^6$ кл/мл выделяли на градиенте плотности фиколл-верографин ($1,076 \text{ г/см}^3$), инкубировали в течение 24 ч в CO_2 инкубаторе при 37°C в питательной среде без митогенов (спонтанная продукция), с добавлением митогена – ФГА (30 мкл). После инкубации клетки осаждали центрифугированием, собирали супернатанты и сохраняли при -20°C до момента тестирования (не более 2 месяцев). Контрольными иммунологическими параметрами служили величины соответствующих показателей при тестировании 15 практически здоровых пациентов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с учетом достоверности разницы по критерию Фишера-Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение.

Анализ результатов исследования показал, что под влиянием базовой терапии герпетической инфекции препаратом Валацикловир у больных контрольной группы и комбинированной схемы с использованием препарата Эсберитокс у больных основной группы происходило уменьшение клинических проявлений герпетической инфекции – эритемы, отека, везикулёзных высыпаний, кожного зуда, а также площади очага поражения. Умеренный клинический эффект у больных основной группы отмечался уже к исходу 4-5-х суток, у больных контрольной группы – к 10-11 дню. Окончательное нивелирование симптомов при комбинированном лечении с использованием препарата Эсберитокс отмечалось к исходу 5-6-х суток, при базовом лечении – на 9-10-е сутки. У 3-х пациентов были отмечены рецидивы за период наблюдения в течение 2 месяцев после окончания курса лечения. В контрольной группе больных, получающих базовую терапию Валацикловиром в суточной дозировке 1г, рецидивы заболевания в период наблюдения были зарегистрированы у большей половины обследованных лиц (6 пациентов). При анализе цитокинпродуцирующей способности мононуклеарных клеток крови как у больных основной, так и контрольной групп до лечения было установлено значительное снижение спонтанной и ФГА-индуцированной секреции мононуклеарными клетками γ -IFN и α -IFN. Позитивная динамика наблюдалась у пациентов основной группы и практически отсутствовала в контрольной группе (рис.1).

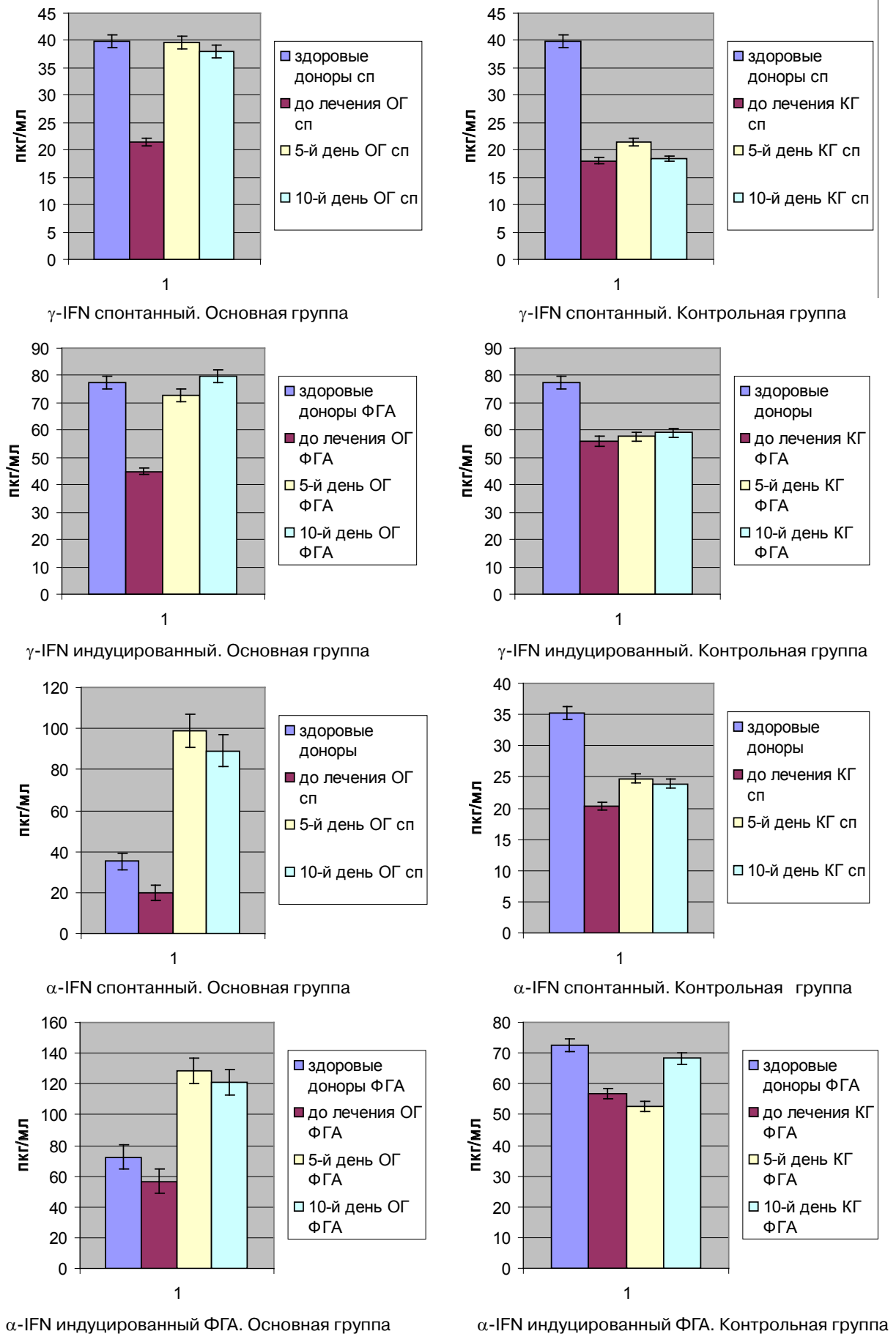


Рис. 1 Цитокинпродуцирующая способность мононуклеарных клеток больных с часторецидивирующей герпесвирусной инфекцией

Исследование поверхностной экспрессии рецептора NKG2D (CD314) на NK-клетках (CD56) периферической крови показало повышение показателей под влиянием препарата Эсберитокс в сравнении с монотерапией Валацикло-

виром уже на 5 сутки лечения, в то время как в контрольной группе повышение экспрессии рецептора NKG2D наблюдалось только на 10 сутки (рис. 2-3).

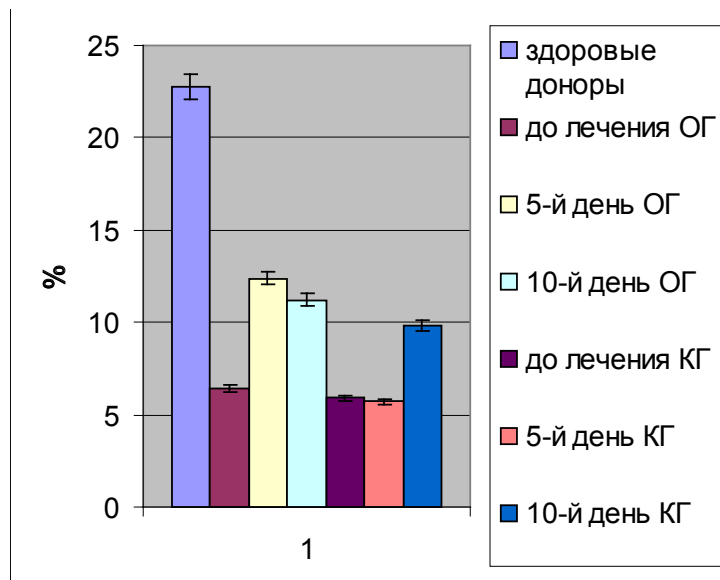


Рис. 2. Динамика поверхностной экспрессии рецептора NKG2D (CD314 PE) на NK-клетках (CD56 FITC) периферической крови.

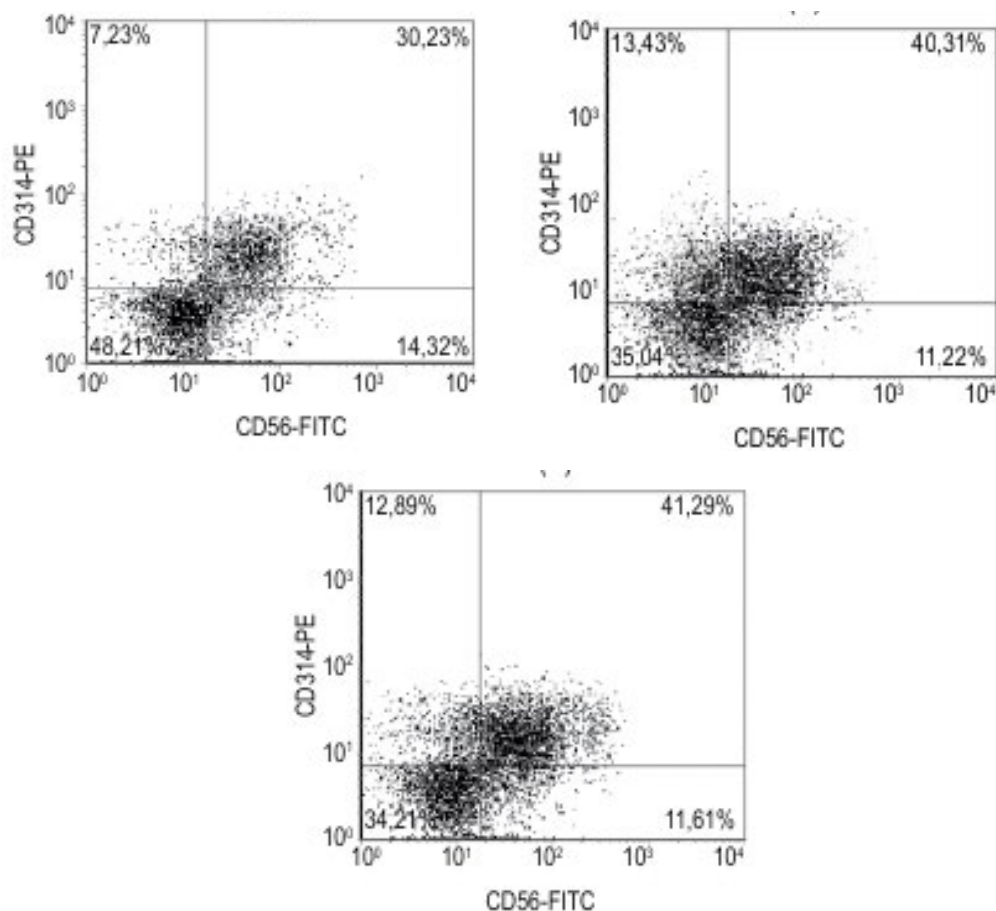


Рис. 3. Типичный пример поверхностной экспрессии рецептора NKG2D (CD314 PE) на NK-клетках (CD56 FITC) периферической крови основной группы перед терапией Эсберитоксом и в динамике.

Динамика поверхностной экспрессии рецептора NKG2D (CD314 PE) на NK-клетках (CD56 ФИТЦ) периферической крови показало повышение показателей под влиянием препа-

рата Эсберитокс в сравнении с монотерапией валацикловиром, хотя достоверных изменений других субпопуляций не наблюдалось (табл. 1).

Таблица 1

		Основная группа			Контрольная группа		
		до лечения	5-й день	10-й день	до лечения	5-й день	10-й день
Лейкоциты, 109/л	6,1 (5,4-7,3)	5,1 (4,3-6,7)	4,85 (4,2-6,9)	5,9 (4,5-7,7)	5,0 (4,1-6,8)	4,9 (4,2-6,8)	5,9 (4,2-7,3)
Лимфоциты, %	35,2 (27,8-39,5)	38,0 (30,3-42,1)	38,7 (26,7-43,2)	41,0 (31,3-45,6)	36,1 (29,3-40,2)	35,7 (23,2-41,1)	40,2 (30,4-42,6)
CD3+, %	65,1 (60,8-71,2)	70,2 (63,2-78,4)	75,6 (69,7-78,8)	74,6 (68,9-78,6)	70,2 (63,2-78,4)	71,2 (69,7-74,2)	70,4 (68,9-72,6)
CD3+CD4+, %	38,3 (33,9-43,1)	45,0 (40,7-48,5)	47,7 (42,4-49,9)	46,9 (43,4-49,1)	44,6 (39,7-48,2)	44,9 (42,2-48,1)	45,9 (40,2-44,1)
CD3+CD8+, %	24,4 (21,2-26,9)	22,1 (18,1-26,3)	24,3 (21,1-26,2)	21,6 (19,2-24,4)	22,1 (18,1-26,3)	24,3 (21,1-26,2)	21,6 (19,2-24,4)
CD19+, %	10,4 (9,8-11,6)	11,1 (8,8-13,8)	11,5 (8,8-14,8)	11,4 (10,8-15,1)	10,8 (8,2-13,8)	10,5 (8,2-13,8)	10,4 (9,8-14,1)
CD314+ CD56, %	22,8 (17,5-27,9)	6,4 (3,8-7,5)	12,4 (9,7-14,8)	11,2 (10,2-13,6)	5,9 (4,5-6,8)	5,7 (4,7-7,4)	9,8 (7,8-12,6)

Таким образом, назначение препарата Эсберитокс при часто рецидивирующей герпесвирусной инфекции является перспективным методом комбинированной иммуоадаптивной терапии, который требует дальнейшего тщательного изучения.

7. Yenani T. Bryceson, Michael E. March, Hans-Gustaf Ljunggren, Eric O. Long. Activation, co-activation, and co-stimulation of resting human NK cells // Immunol. Rev.- 2006 .- Dec; 214: 10.1111/j.1600-065X.2006.00457.

ЛИТЕРАТУРА

- Alex M. Abel, Chao Yang, Monica S. Thakar, Subramaniam Malarkannan Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization Front Immunol. 2018; 9: 1869.
- Douglas W. White, R. Suzanne Beard, Erik S. Barton Immune Modulation During Latent Herpesvirus Infection // Immunol Rev.- 2012 Jan; 245(1): 189–208.
- Min Kim, Naomi R. Truong, Virginia James et all. Relay of Herpes Simplex Virus between Langerhans Cells and Dermal Dendritic Cells in Human Skin // PLoS Pathog.- 2015 Apr; 11(4): e1004812.
- Naomi R. Truong, Jacinta B. Smith, Kerrie J. Sandgren, and Anthony L. Cunningham. Mechanisms of Immune Control of Mucosal HSV Infection: A Guide to Rational Vaccine Design// Front. Immunol., 06 March - 2019 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00373>
- Pedro M. M. Mesquita, Paula Preston-Hurlburt et all. Role of Interleukin 32 in Human Immunodeficiency Virus Reactivation and Its Link to Human Immunodeficiency Virus–Herpes Simplex Virus Coinfection // J.Infect. Dis. -2017 Feb 15; 215(4): 614–622.
- Wald A, Link K. Risk of human immunodeficiency virus infection in herpes simplex virus type 2-seropositive persons: a meta-analysis // J. Infect. Dis. -2002.- 185:45–52

РЕЗЮМЕ

Влияние препарата Эсберитокс на функциональную активность 2D-позитивных натуральных киллерных клеток (NKG2D) и интерфероновый статус у больных с рецидивом инфекции вируса простого герпеса

¹Курченко А.И., ²Пшеничная И.В.

¹Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев

²Клиника иммунологии и аллергологии «Форпост», г.Киев

Целью исследования было оценить изменения функциональной активности 2D-позитивных натуральных киллерных клеток (NKG2D) и интерферонового статуса у больных с рецидивом герпесвирусной инфекции под влиянием препарата Эсберитокс.

Материалы и методы. Исследовано 30 пациентов в возрасте 22-45 лет с часто рецидивирующим лабиальным герпесом, верифицированным ранее методом ПЦР. Частота обострений на момент исследования составляла 6 (5,3±1,4) и более раз в год. Пациенты первично обследовались в пределах 24 часов от момента появления высыпаний. Экспрессию CD314 на поверхности CD3-CD56 лимфоцитов определяли методом проточной цитофлюориметрии (EPICS XL, Beckman Coulter). Содержание цитокинов (α-и γ-IFN) в супернатантах определяли иммуоферментным методом (IBL, Германия). Пациенты принимали таблетки Эсберитокс по 2 таб. x 3 раза в день и таблетированный Валацикловир в суточной дозировке 1 грамм на протяжении 7 дней. Контрольную группу составили 10 пациентов, получающих только таблетированный Валацикловир.

Результаты исследования. В результате проведенного исследования установлено, что окончательное нивелирование симптомов при комбинированном лечении с использованием препарата Эсберитокс отмечалось к исходу 5-6-х суток, при базовом лечении – на 9-10 сутки. Отмечено уменьшение частоты рецидивов (3 пациента) за период наблюдения в течение 2 месяцев после окончания курса лечения. У пациентов, получающих базовую терапию Валацикловиром рецидивы заболевания в период наблюдения были зарегистрированы у большей половины обследованных лиц (6 пациентов). Установлена позитивная динамика увеличения уровня γ -IFN и α -IFN у пациентов основной группы и практически её отсутствие в контрольной группе. Динамика поверхностной экспрессии рецептора NKG2D на NK-клетках периферической крови показала повышение показателей под влиянием препарата Эсберитокс в сравнении с монотерапией валацикловиром, при этом достоверных изменений других субпопуляций лимфоцитов не наблюдалось.

Выводы. Назначение препарата Эсберитокс при часто рецидивирующей герпесвирусной инфекции является перспективным методом комбинированной иммуноадаптивной терапии, который требует дальнейшего тщательного изучения.

Ключевые слова: герпес, интерфероны, NK-клетки, Эсберитокс.

РЕЗЮМЕ

Вплив препарату Есберітокс на функціональну активність 2D-позитивних натуральних кілерних клітин (NKG2D) і інтерфероновий статус у хворих з рецидивом інфекції вірусу простого герпесу

¹Курченко А.І., ²Пшенична І.В.

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м.Київ

²Клініка імунології та алергології «Форпост», м.Київ

Метою дослідження було оцінити зміни функціональної активності 2D-позитивних натуральних кілерних клітин (NKG2D) і інтерферонового статусу у хворих з рецидивом герпесвірусної інфекції під впливом препарату Есберітокс.

Матеріали та методи. Обстежено 30 пацієнтів у віці від 22 до 45 років з частим рецидивуючим лабіальним герпесом, верифікованим методом ПЛР. Частота загострень на момент дослідження становила $6 (5,3 \pm 1,4)$ і більше разів на рік. Пацієнти обстежувалися протягом 24 годин з моменту появи висипу. Експресію CD314 на поверхні лімфоцитів CD3-CD56 визначали методом проточної цитометрії (EPICS XL, Beckman Coulter). Вміст цитокінів (α -IFN і γ -IFN) у супернатантах визначали за допомогою імуноферментного аналізу (IBL, Німеччина). Пацієнти основної групи приймали таблетки Есберітокс по 2 таблетки 3 рази на день і таблетки Валацикловір в добовій дозі 1 грам протягом 7 днів. Контрольну групу склали 10 пацієнтів, які отримували тільки таблетований Валацикловір.

Результати дослідження. В результаті проведенного дослідження було встановлено, що оста-

точно нівелювання симптомів при комбінованому лікуванні з використанням таблеток Есберітокс зазначалося до кінця 5-6-ї доби, а при базовому лікуванні – на 9-10 добу. Відмічено зменшення частоти рецидивів (лише у 3 пацієнтів) за період спостереження протягом 2 місяців після закінчення курсу лікування. У пацієнтів, які отримували тільки базову терапію Валацикловіром, рецидиви протягом періоду спостереження були зареєстровані більш ніж у половини обстежених осіб (6 пацієнтів). Встановлена позитивна динаміка збільшення рівня γ -IFN і α -IFN у пацієнтів основної групи і практично її відсутність в контрольній групі. Динаміка поверхневої експресії рецептора NKG2D на NK-клітинах периферичної крові показала підвищення показників під впливом препарату Есберітокс в порівнянні з монотерапією Валацикловіром, при цьому достовірних змін інших субпопуляцій лімфоцитів не спостерігалось.

Висновки. Застосування препарату Есберітокс при часто рецидивуючій герпесвірусній інфекції є перспективним методом комбінованої імуноадаптивної терапії, яка вимагає подальшого ретельного вивчення.

Ключові слова: герпес, інтерферони, NK-клітини, Esberitox.

SUMMARY

The effect of Esberitox on the functional activity of 2D-positive natural killer cells (NKG2D) and interferon status in patients with recurrence of herpes simplex virus infection

¹Kurchenko A.I., ²Pshenychna I.V.

¹National Medical University named after A.A. Bogomolets, Kyiv

²Clinic of immunology and allergology "Forpost", Kyiv

The aim of the study was to assess changes in the functional activity of 2D-positive natural killer cells (NKG2D) and interferon status in patients with recurrence of herpes virus infection under the influence of Esberitox.

Materials and methods. We studied 30 patients aged 22-45 years old with frequent relapsing labial herpes, previously verified by PCR. The frequency of exacerbations at the time of the study was $6 (5.3 \pm 1.4)$ and more than once a year. Patients were initially examined within 24 hours of the appearance of rashes. The expression of CD314 on the surface of CD3-CD56 lymphocytes was determined by flow cytometry (EPICS XL, Beckman Coulter). The content of cytokines (α - and γ -IFN) in supernatants was determined by enzyme immunoassay (IBL, Germany). Patients took Esberitox tablets, 2 tablets x 3 times a day, and daily 1-gram tablets of Valacyclovir for 7 days. The control group consisted of 10 patients receiving only tablet valacyclovir.

Results. As a result of the study, it was found that the final leveling of symptoms with combined treatment with Esberitox was noted by the end of 5-6 days, with basic treatment - by 9-10 days. There was a decrease in the relapse rate (3 patients) during the observation period within 2 months after the end of the course of treatment. In patients receiving basic Valacyclovir therapy, relapses during the observation period were recorded in

more than half of the examined individuals (6 patients). The positive dynamics of the increase in the level of γ -IFN and α -IFN in patients of the main group and its almost absence in the control group were established. The dynamics of surface expression of the NKG2D receptor on peripheral blood NK cells showed an increase parameters under the influence of the Esberitox drug

compared with Valacyclovir monotherapy, with no significant changes in other lymphocyte subpopulations.

Conclusions. The administration of Esberitox in case of frequently recurring herpes virus infection is a promising method of combined immuno-adaptive therapy, which requires further careful study.

Key words: herpes, interferons, NK cells, Esberitox.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА:

• **Пшенична Інна Володимирівна**

Завідувач лабораторії ТОВ Клініка імунології та алергології «Форпост»

м. Київ, вул. Єжи Гедройця, 2

098-444-91-75

valchukinna@yahoo.com

• **Пшеничная Инна Владимировна**

Заведующая лаборатории ТОВ Клиника иммунологии и алергологии «Форпост»

г. Киев, ул. Ежи Гедройца, 2

098-444-91-75

valchukinna@yahoo.com

• **Pshenychna Inna**

Chief of Laboratory Clinic of Immunology and Allergology "Forpost"

Kyiv, Jezhy Gedrojcja, 2 str.

098-444-91-75

valchukinna@yahoo.com

• **Курченко А.І.,**

д.мед.н., проф., завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики Національний медичний університет імені О. О. Богомольця.

01053, Україна, м Київ,
бульвар Т. Шевченка, 17

тел.: +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

• **Курченко А.И.,**

д.мед.н., проф., заведующий кафедрой клинической иммунологии и алергологии с секцией медицинской генетики Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца.

01053, Украина, г. Киев,
Бульвар Т. Шевченко, 17

тел.: +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

• **Kurchenko A.I.**

MD, Prof., Head of the Department of Department of Clinical Immunology and Allergists with a Section of Medical Genetics O.O. Bogomolets National Medical University.

01053, Ukraine, Kyiv,
T. Shevchenko Boulevard, 17

tel.: +38 (050) 581-23-45

E-mail: andrii.kurchenko@nmu.ua

Стаття надійшла до редакції 18.05.2020р.

ЗМІНИ ВМІСТУ ІМУННИХ КЛІТИН, ЯКІ МІСТЯТЬ FcR III РЕЦЕПТОР В СЕЛЕЗІНЦІ ТА ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧМТ

ЛІСЯНИЙ М.І., ПАЛАМАРЬОВА А.В., БЕЛЬСЬКА Л.М., ПОТАПОВА А.Г.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України, відділ нейроімунології

При ЧМТ виникають порушення в діяльності імунної системи, що може ускладнювати регенеративні та репаративні відповідні реакції в головному мозку [1-3].

Важливу роль в імунопатогенезі ЧМТ відіграють цитотоксичні лімфоцити, моноцити, нейтрофіли, які можуть визивати післятравматичне запалення та ушкодження нейронів [3,4]. Однією із характеристик цих різних імунних клітин є експресія на них Fc рецептора III типу, відомого як CD-16 рецептор [5,6]. У людей CD-16 рецептор існує у 2-х формах: FcR III a (CD-16a) та FcR III b, які відносяться до молекул супер сімейства імуноглобулінів [6].

Показано, що FcR III a експресується на натуральних кілерних клітинах, макрофагах та тучних клітинах, тоді як FcR III b виявляють, в основному, на нейтрофілах [7]. Обидва рецептори разом приймають участь у різних імунних реакціях, таких як деградація базофілів та тучних клітин, фагоцитозі та окислювальному вибуху нейтрофілів, прямій та антитіло опосередкованій цитотоксичності моноцитів та натуральних кілерів [6,8]. Імунні клітини, які експресують CD-16 рецептор, приймають участь у знищенні вірусно інфікованих та ракових клітин, навіть без участі антитіл [9]. Крім того, клітини, які мають CD-16 рецептор, здатні індукувати синтез прозапальних цитокінів, таких як інтерферон γ (ІНФ- γ) та пухлинно-некротичний фактор (ПНФ), а також індукувати синтез рецептора ІЛ-2, який важливий для активації Т-клітин [8,9]. CD-16 широко використовується для ідентифікації різних типів імунних клітин, таких як натуральні кілерні клітини, нейтрофіли, моноцити, мієлоїдні, супресорні клітини [6,9,10]. На нейтрофілах та інших фагоцитуючих клітинах можлива висока та низька експресія CD-16, зрілі нейтрофіли мають високий рівень експресії CD-16, а попередники нейтрофілів, юні нейтрофіли, мають низький рівень експресії [9,10]. CD-16 клітини визначають за допомогою моноклональних антитіл і досить широко вивчають ці клітини при пухлинних, вірусних захворюваннях [6,7,11]. В той же час рівень цих клітин ще не достатньо широко досліджений при ЧМТ в людини та експерименті на тваринах, тому метою роботи було вивчення

вмісту CD-16 клітин в селезінці та паренхімі головного мозку при різних термінах після ЧМТ у щурів та при корекції виниклих порушень в їх складі імуномодельючим препаратом галавітом, який має здатність гальмувати запальні та імунопатологічні процеси в організмі [12,13].

Матеріали та методи. В роботі використані експериментальні тварини: статевозрілі щури розведення віварію ДУ «ІНХ НАМН»). Усі роботи з експериментальними тваринами проводили з дотриманням законодавчих норм та вимог Закону України №3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), з урахуванням принципів біоетики та норм біологічної безпеки. Тварин утримували у стандартних умовах віварію, знеболення перед травмою проводили кетаміном 70 мг/кг та ксалазином 15 мг/кг, а евтаназію визивали наркозом за допомогою етилового ефіру в закритому ексикаторі.

Моделювання ЧМТ у щурів. Черепно-мозкова травма у тварин моделювалась шляхом падіння грузу вагою 100 г з висоти 120 см на голову щурів, що були занаркотизовані внутрішньочеревно 0,5 мл розчину кетаміну 70 мг/кг та ксалазину 15 мг/кг і знаходились в стані наркотичного сну, який тримався до 30 хв. Голову тварин розташовували під пластиковою вертикальною трубою діаметром 2,5 см, висотою 120 см таким чином, щоб удар (контакт) падаючого вантажу приходився на ліву півкулю в області тім'яної та потиличної долі головного мозку.

Після отримання травми у тварин рефлекторно відбувалась затримка дихання на кілька секунд, яке потім відновлювалось до звичайного ритму. Судом та інших порушень або виділення сечі та калу у тварин не було. Через 20-30 хв тварини виходили із наркозу і починали ворухитись та рухатись по клітці. Потім вони знаходились на звичному режимі утримання та харчування. Через 1, 5, 10 діб тварин з ЧМТ та контрольних інтактних щурів умертвляли ефірним наркозом та забирали селезінку та головний мозок.

Для корекції виникаючих порушень використовували імуномодулюючий препарат галавіт

в дозі 2 мг/кг ваги тварин в об'ємі 0,5 мл, що вводили внутрішньом'язово тваринам на 2, 3, 4 добу після травми.

Відомо, що галавіт має імуномодулюючі та протизапальні властивості, його основні ефекти обумовлені здатністю діяти на функціональну та метаболічну активність макрофагів та нейтрофілів. Препарат на 6-8 годин блокує синтез цитокінів, активних форм кисню, гальмує запальну реакцію та зменшує інтоксикацію організму.

Отримання суспензії спленоцитів та клітин мікроглії та інфільтруючих імунних клітин головного мозку.

Селезінку та ліву та праву півкулі головного мозку гомогенізували в 5,0 мл середовища 199 та підраховували в камері Горяєва з 3% оцтовою кислотою, готували суспензії, які містили $10,0 \times 10^6$ клітин на 1 мл середовища 199.

Мікроглію та інфільтруючі ЦНС моноцити виділяли з тканини мозку щурів в ступінчастому градієнті перколла за методом Sedgwick J. у співавт. [14].

Мікроглія (OX1low) у дорослих інтактних тварин при цьому методі виділення становить 82,9% від загального числа виділених клітин, що було показано авторами методики [14] тестуванням цитофлуорометричним аналізом з використанням моноклональних антитіл щурів. Після отримання клітини відмивали від залишків перколла в CMF буфері, ресуспендували в середовищі Ігла, підраховували в розчині трипанового

синього та 3% оцтової кислоти і використовували в подальших дослідженнях.

Визначення рівня CD-16 клітин в суспензіях селезінки та мікроглії проводили на проточному цитометрі за допомогою моноклональних антитіл проти CD-16 рецептора фірми BD Biosciences згідно інструкції до антитіл та методичних рекомендацій. Пинегіна Б.В. і ін. (2001) [15].

Статистичну обробку матеріалів проводили за програмою статобробки для Microsoft excel 2007 р. з визначенням середнього арифметичного і стандартного статистичного відхилення ($m \pm \sigma$) і показника t-Ст'юдента. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати. Визначення рівня CD-16 клітин в селезінці виявило, що уже через 24 години після травми відбувається вірогідне зниження майже в 1,5 рази рівня CD-16 клітин в селезінці (табл.1), яке зберігається в подальші терміни на 5 та 10 добу. Це свідчить про вихід цих клітин з селезінки, яка є вторинним імунним органом і служить депо для різних імунних клітин. При проведенні імунокорекції галавітом в дозі 2,0 мг/кг в об'ємі 0,5 мл протягом 1, 2, 3 днів після ЧМТ, було встановлено, що на 5 добу кількість CD-16 клітин в селезінці, вірогідно, ще більше зменшується порівняно з нелікованими тваринами. На 10 добу дещо підвищується вміст CD-16 клітин в селезінці до рівня клітин, які виявляються при нелікованій ЧМТ у цей термін.

Таблиця 1

Рівень CD-16 клітин в селезінці при ЧМТ та лікуванні галавітом

Терміни	ЧМТ		ЧМТ+лікування
	n	Рівень CD-16 клітин (%)	Рівень CD-16 клітин (%)
1 доба	n m ± σ	7 25,10 ± 1,34*	
5 доба	n m ± σ	6 29,3 ± 4,6*	6 20,31 ± 2,318** P<0,05
10 доба	n m ± σ	8 24,77 ± 7,11* <0,01	8 22,57 ± 2,63* P>0,05
Контроль	n m ± σ	6 43,0 ± 3,82	

Примітка: * – вірогідні відмінності в порівнянні з групою контролю (P<0,05)
** – вірогідні відмінності в порівнянні з нелікованими тваринами.

Отже, проведеними дослідженнями виявлено, що при ЧМТ в селезінці суттєво зменшується кількість CD-16 клітин, і це може бути пов'язано як із міграцією їх в зону ушкодження, так і гальмуванням їх продукції імуносупресорними чинниками, які виникають при ЧМТ [1,4]. Використання прозапального імуномодулятора галавіту в ранні терміни визиває подальше гальмування вмісту CD-16 клітин на 5 добу, але ця дія була

короткочасна і уже на 10 добу не виявилась різниця концентрацій цих клітин у лікованих та нелікованих тварин.

При дослідженні рівня CD-16 клітин у фракціях мікрогліальних та фагоцитарних клітин, виділених із мозку, було виявлено, що в обох півкулях мозку міститься вірогідно збільшена кількість цих клітин на 5 добу (табл.2). На 10 добу після ЧМТ рівень CD-16 клітин зменшу-

вався і практично був на рівні контролю. Різниця у вмісту CD-16 клітин в лівій та правій півкулі не було виявлено як на 5, так і на 10 добу. Другим важливим фактором є те, що уже на 10 добу після такої травми рівень CD-16 клітин набли-

жається до концентрації як і у здорових тварин, тобто уже на цей термін завершуються основні запальні процеси в головному мозку і відсоток клітин знижується до показників інтактних тварин.

Таблиця 2

Рівень CD-16 клітин у фракціях мікрогліальних клітин головного мозку при ЧМТ та лікуванні галалітом

Терміни		ЧМТ		ЧМТ+лікування	
1 доба	n m ± σ	6 16,75 ± 4,96*	6 24,5 ± 3,79*		
5 доба	n m ± σ	6 30,75 ± 3,96*	6 34,5 ± 4,79*	6 30,41 ± 7,2*	6 26,41±6,37**
10 доба	n m ± σ	7 20,43 ± 11,2	7 18,09 ± 9,12	7 27,0 ± 7,05**	7 25,61±5,05**
контроль	n m ± σ	8 18,3 ± 7,4	8 15,25 ± 5,43		

Примітка: * – вірогідні відмінності в порівнянні з групою контролю (P<0,05)
** – вірогідні відмінності в порівнянні з нелікованими тваринами.

При проведенні імунотерапії галалітом тварин з ЧМТ виявлено, що на 5 добу кількість CD-16 клітин у фракціях мікрогліальних клітин головного мозку була така, як ті, які не отримували цей препарат, лише в правій півкулі містилось CD-16 клітин дещо менше, ніж у лівій. При дослідженні на 10 добу було встановлено, що рівень цих клітин у фракціях мікроглії був достовірно збільшений порівняно з нелікованими та з контрольними тваринами.

Обговорення результатів

Отже, проведеними дослідженнями встановлено, що при ЧМТ у щурів відбуваються зміни в складі CD-16 позитивних клітин, а саме: в ранні строки на 1-5 добу визначається зниження рівня цих клітин в селезінці і підвищення в головному мозку.

Підвищення вмісту CD-16 клітин в головному мозку спостерігається у фракціях, які виділялись на перколі і містили, в основному, мікрогліальні та фагоцитуючі клітини. Цим клітинам, особливо мікрогліальним, приділяється основна роль в механізмі запалення, пошкодження нейронів, видалення клітинного дебрису, процесів регенерації та відновлення [3, 4, 7].

Встановлений перерозподіл CD-16 клітин при ЧМТ із вторинного імунного органу селезінки в зону пошкодження, вказує на участь в імунопатогенезі ЧМТ клітин системного імунітету, природа цих клітин може бути різною: це і цитотоксичні лімфоцити, нейтрофіли, кілерні клітини, які, як відмічалось раніше, експресують FcR III рецептор [4,6,11]. Накопичення в паренхімі головного мозку CD-16 клітин можна відне-

сти до фракції нейтрофільних клітин, а можливо, і самі мікрогліальні клітини також мають цей рецептор, тому що у інтактних тварин, виділених на перколі, у фракціях клітин міститься до 20% таких клітин [14].

Проведена імунотерапія імунотерапевтичним галалітом на 2-4 добу після ЧМТ, підсилює міграцію CD-16 клітин із селезінки на 5 добу, а також сприяє затримці в головному мозку на 10 добу CD-16 клітин, тоді як у не лікованих тварин уже в цей строк рівень CD-16 клітин уже зменшується до норми. Отже, можна припустити, що галавіт впливає на міграцію та розподіл CD-16 клітин в мозку при ЧМТ. На 5-10 добу після ЧМТ отримані результати дозволяють думати, що збільшення на 10 добу кількості CD-16 клітин у головному мозку сприяє більш кращому відновленню та регенерації пошкодженого при травмі мозку [3,4].

Проведеними дослідженнями не встановлено суттєвої відмінності у кількості CD-16 клітин в лівій та правій півкулі, що може свідчити, що при цій моделі ЧМТ пошкоджуються обидві півкулі мозку, куди спрямовуються різні імунні клітини, в тому числі і ті, що мають FcR III рецептор для імуноглобулінів.

Висновки

При легкій ЧМТ у щурів в селезінці на 2-5 добу зменшується кількість CD-16 клітин, що містять FcR III рецептор, а у фракціях мікрогліальних клітин, які отримали із суспензії клітин головного мозку, збільшується кількість цих клітин.

На 10 добу після ЧМТ вміст в селезінці CD-16 клітин залишається знижений, тоді як у фракціях

мікроглії, їх кількість повертається до рівня, який притаманний інтактним тваринам.

Галавіт – препарат із імуномодельючими властивостями, практично не впливає на знижений рівень CD-16 клітин в селезінці та стимулює їх накопичення в головному мозку на 10 добу після ЧМТ, що може свідчити про позитивну стимулюючу дію цього препарату на імунні клітини, які приймають активну участь в імунних процесах при ЧМТ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ромоданов А.П., Лисяний Н.И. Черепно-мозговая травма и иммунологическая реактивность организма. Киев. Здоровья.-1991.-151с.
2. Лисяний Н.И., Бельская Л.Н., Потапова А.И. Особенности нейроаутоиммунных реакций при черепно-мозговой травме различной тяжести //Имунологія та алергологія: наука і практика. 2019,-№1.-С.23-29
3. Педаченко Е.Г., Лисяний Н.И. Хроническая травматическая энцефалопатия: природа, механизмы и стадии развития //Ukrainian Neurosurgical Journal.-2019.-Vol.23, №3.-С.5-11.
4. Лисяний Н.И. Двойная роль иммунной системы в патогенезе черепно-мозговой травмы //Ukrainian Neurosurgical Journal.-2019.-Vol.25, №1.-С.5-11.
5. Vivier E, Morin P, O'Brien C, Drukor B, Schlossman SF, Anderson P (January 1991) "Tyrosine phosphorylation of the Fc gamma RIII (CD16) zeta complex in human natural killer cells. Induction by antibody-dependent cytotoxicity but not by natural killing". Journal of Immunology.146 (1). 206-10. PMID 170192.
6. Mandelboim O, Malik P, Davis DM, Jo CH, Boyson JE, Strominger JL (May 1999) "Human CD16 as a lysis receptor mediating direct natural killer cell cytotoxicity". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.96 (10): 5640-4. Doi:10.1073/pnas.96.10.5640.PMC 21913. PMID 10318937.
7. Yeap WH, Wong KL, Shimasaki N, Teo EC, Quek JK, Yong HX, Diong CP, Bertoletti A., Linn YC, Wong SC (September 2016). "CD16 is indispensable for antibody-dependent cellular cytotoxicity by human monocytes". Scientific Reports. 6 (1): 34310. doi:10.1038/sred34310. PMC 5037471. PMID 27670158.
8. Anegon I, Cuturi MC, Trinchieri G, Perussia B (February 1988). "Interaction of Fc receptor (CD16) ligands induces transcription of interleukin 2 receptor (CD25) and lymphokine genes and expression of their products in human natural killer cells" The Journal of Experimental Medicine.167 (2): 452-72. Doi:10.1084/jem.167.2.452 PMC 2188858. PMID 2831292.
9. Dumitru CA, Moses K, Trellakis S, ang S, Brandau S (August 2012). "Neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: immunophenotyping. Cell biology and clinical relevance in human oncology". Cancer immunology, Immunotherapy. 61 (8). 1155-67. doi: 10.1007/s00262-012-1294-5. PMID 22692756.
10. Pillay J, Tak T, Kamp VM, Koenderman L (October 2013). "Immune suppression by neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: similarities and differences" Cellular and Molecular Life Sciences.70 (20): 3813-27. doi 10. 1007/s000 18-013-1286-4. PMC 3781313. PMID 23423530.
11. Arambura J, Azzoni L, Rao A, Perussia B (September 1995) "Activation and expression of the nuclear factors of activated T cells, NFATc, in human natural killer cells: regulation 10.doi 10.1084/jem.182.3.801. PMC 2192167. PMID 7650486
12. Гришина Т.И., Кузьмина Е.Г., Захарова Н.С. Иммуномодулирующие свойства препарата галавит //В кн. «Галавит».- М.Медицина С.6-16.
13. Латышева Т.В., Щербакова О.А. Новые возможности направленной иммунологической коррекции на примере отечественного иммуномодулятора Галавит. //Рос.аллергол.журнал.-2004,№1.-С.77-81.
14. Sedgwick D., Schwender S., Imrich H. et al. Isolation and direct characterization of resident microglial cells from the normal and inflamed central nervous system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1991.-N.88.-P.7438-7442.
15. Пинегин Б.В. Ярилин А.А. Симоновва А.В и др. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека (Пособие для врачей) Москва ,2001 55 с.

РЕЗЮМЕ

ЗМІНИ ВМІСТУ ІМУННИХ КЛІТИН, ЯКІ МІСТЯТЬ FcR III РЕЦЕПТОР В СЕЛЕЗІНЦІ ТА ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧМТ

Лисяний М.І., Паламарьова А.В., Бельська Л.М., Потапова А.Г.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України, відділ нейроімунології

При ЧМТ виникають порушення в діяльності імунної системи, що може ускладнювати регенеративні та репаративні відповідні реакції в головному мозку.

Метою роботи було вивчення вмісту CD-16 клітин в селезінці та паренхімі головного мозку при різних термінах після ЧМТ у щурів та при корекції виниклих порушень в їх складі імуно-моделюючим препаратом галалітом.

Методи. Черепно-мозкова травма у тварин моделювалась шляхом падіння грузу вагою 100 г з висоти 120 см на голову щурів, що були занаркотизовані і знаходились в стані наркотичного сну, який тримався до 30 хв. Для корекції виникаючих порушень використовували імуномодулюючий препарат галавіт в дозі 2 мг /кг ваги тварин в об'ємі 0,5 мл, який вводили внутрішньом'язово тваринам на 2, 3, 4 добу після травми.

Селезінку та ліву та праву півкулі головного мозку гомогенізували в 5,0 мл середовища 199 і готували суспензії, які містили 10,0x10⁶ клітин на 1 мл середовища 199. Мікроглію та інфільтруючі ЦНС моноцити готували за методом Sedgwick J. у співав. Визначення рівня CD-16 клітин в суспензіях селезінки та мікроглії проводили на проточному цитометрі за допомогою моноклональних антитіл проти CD-16 рецептора фірми BD Biosciences згідно інструкції до антитіл.

Результати. При легкій ЧМТ у щурів в селезінці на 2-5 добу зменшується кількість CD-16 клітин, що містять FcR III рецептор, а у фракціях мікрогліальних клітин збільшується кількість цих клітин.

Галавіт – препарат із імуномодулюючими властивостями, практично не впливає на знижений рівень CD-16 клітин в селезінці та стимулює їх накопичення в головному мозку на 10 добу після ЧМТ.

Висновки. Отримані результати свідчать про вплив галавіту на рівень CD-16 клітин в селезінці та головному мозку, що вказує на імуно-моделюючу активність цього препарату.

Ключові слова: черепно-мозкова травма в експерименті, галавіт, імунні клітини головного мозку та селезінки, FcR III - рецептор

РЕЗЮМЕ

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИММУННЫХ КЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ FcR III РЕЦЕПТОР В СЕЛЕЗЕНКЕ И ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧМТ

Лисяный М.И., Паламарёва А.В., Бельская Л.М.,
Потапова А.Г.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова
НАМН Украины, отдел нейроиммунологии

При ЧМТ возникают нарушения в деятельности иммунной системы, что может затруднять регенеративные и репаративные ответные реакции в головном мозге

Целью работы было изучение содержания CD-16 клеток в селезенке и паренхиме головного мозга при разных сроках после ЧМТ у крыс и при коррекции

возникших нарушений в их составе иммуномодулирующим препаратом галалітом.

Методы. Черепно-мозговая травма у животных моделировалась путем падения груза весом 100 г с высоты 120 см на голову крыс, которые были занаркотизированы и находились в состоянии наркотического сна, который держался до 30 мин. Для коррекции возникающих нарушений использовали иммуномодулирующий препарат галавит в дозе 2 мг/кг веса животных в объеме 0,5 мл, который вводили внутримышечно животным на 2, 3, 4 сутки после травмы.

Селезёнку и левую и правую полушария головного мозга гомогенизировали в 5,0 мл среды 199 и готовили суспензии, содержащие 10,0x10⁶ клеток на 1 мл среды 199 микроглии и инфильтрирующие ЦНС моноциты готовили по методу Sedgwick J. в соавт. Определение уровня CD-16 клеток в суспензиях селезенки и микроглии проводили на проточном цитометре с помощью моноклональных антител против CD-16 рецептора фирмы BD Biosciences согласно инструкции к антителам.

Результаты. При лёгкой ЧМТ, у крыс в селезенке на 2-5 сутки уменьшается количество CD-16 клеток, содержащих FcR III рецептор, а во фракциях микроглияльных клеток увеличивается количество этих клеток.

Галавит – препарат с иммуномодулирующими свойствами, практически не влияет на пониженный уровень CD-16 клеток в селезенке и стимулирует их накопление в головном мозге на 10 сутки после ЧМТ.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о влиянии Галавита на уровень CD-16 клеток в селезенке и головном мозге, что указывает на иммуномодулирующую активность этого препарата.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма в эксперименте, галавит, иммунные клетки головного мозга и селезенки, FcR III - рецептор

SUMMARY

CHANGES IN THE CONTENT OF IMMUNE CELLS CONTAINING THE FcR III RECEPTOR IN THE SLEEP AND BRAIN AFTER EXPERIMENTAL TBI

Lisyany M., Palamaryova A., Belska L., Potapova A.

GU "Institute of Neurosurgery named after Acad. A. Romodanov
NAMS of Ukraine", Department of Neuroimmunology

At TBI there are disturbances in activity of immune system, can complicate regenerative and reparative responses in a brain.

The aim of the study was to study the content of CD-16 cells in the spleen and brain parenchyma at different times after TBI in rats and in the correction of disorders in their composition by immunomodulatory drug galalite.

Methods. Craniocerebral trauma in animals was modeled by dropping a load weighing 100 g from a height of 120 cm on the head of rats that were anesthetized and were in a state of narcotic sleep, which lasted up to 30 minutes. To correct the resulting disorders used immunomodulatory drug galavit at a dose of 2 mg / kg of animal weight in a volume of

0.5 ml, which was administered intramuscularly to animals for 2, 3, 4 days after injury.

The spleen and the left and right hemispheres of the brain were homogenized in 5.0 ml of medium 199 and suspensions containing 10.0×10^6 cells per 1 ml of medium 199 microglia were prepared and infiltrated CNS monocytes were prepared by the method of Sedgwick J. in co-authors. Determination of the level of CD-16 cells in suspensions of spleen and microglia was performed on a flow cytometer using monoclonal antibodies against CD-16 receptor company BD Biosciences according to the instructions for antibodies.

Results. In mild TBI in rats, the number of CD-16 cells containing the FcR III receptor decreases

in the spleen for 2 to 5 days, and the number of these cells in the fractions of microglial cells increases.

Galavit is a drug with immunomodulatory properties, has virtually no effect on low levels of CD-16 cells in the spleen and stimulates their accumulation in the brain for 10 days after TBI.

Conclusions. The results indicate the effect of Galavit on the level of CD-16 cells in the spleen and brain, which indicates the immunomodulatory activity of this drug.

Keywords: craniocerebral trauma in the experiment, galavit, immune cells of the brain and spleen, FcR III – receptor

Конфлікт інтересів відсутній.

АВТОРСКА ДОВІДКА

- **Лісяний Микола Іванович**
начальник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії НАМНУ», член-корр. НАМНУ, професор.
моб. телефон: +38 067-595-34-36
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Лисяний Николай Иванович**
начальник отдела нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии НАМНУ», член-корр. НАМНУ, профессор.
моб. телефон: +38 067-595-34-36
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Lysianiy Mykola**
Head of Neuroimmunology Department, State Institution «Institute of Neurosurgery NAMSU», Corr- Member NAMNU, Professor
Mob. tel.: +38 067-595-34-36
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Паламарьова Настя**
молодший науковий співробітник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії НАМНУ».
моб. тел.: +38 063-842-53-86
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Паламарьова Настя**
младший научный сотрудник отдела нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии НАМНУ»,
моб. тел.: +38 063-842-53-86
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Palamaryova Nastya**
Junior Research Fellow, Department of Neuroimmunology, Institute of Neurosurgery, NAMSU,
mob. tel.: +38 063-842-53-86
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Бельська Людмила Миколаївна**
старший науковий співробітник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії НАМНУ», кандидат біологічних наук.
Моб. Тел.: +38 050-590-88-61
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Бельская Людмила Николаевна**
старший научный сотрудник отдела нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии НАМНУ», кандидат биологических наук.
Моб. Тел.: +38 050-590-88-61
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Belska Lyudmila**
Senior Researcher, Department of Neuroimmunology, Institute of Neurosurgery NAMSU, Candidate of Biological Sciences
Mob. tel.: +38 050-590-88-61
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Потапова Антоніна Гнатівна**
молодший науковий співробітник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії НАМНУ».
тел..моб +38 098 084 54 33
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Потапова Антонина Игнатьева**
младший научный сотрудник отдела нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии НАМНУ»
тел..моб +38 098 084 54 33
E-mail: nimun.neuro@gmail.com
- **Potapova Antonina**
Junior Research Fellow, Department of Neuroimmunology, Institute of Neurosurgery, NAMSU,
mob. tel.: +38 098 084 54 33
E-mail: nimun.neuro@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 28.05.2020 р.

АНТИСИНТЕТАЗНИЙ СИНДРОМ З ПОЗИЦІЇ КЛІНІЧНОГО ІМУНОЛОГА

*ЛІЩУК-ЯКИМОВИЧ Х., ЧОП'ЯК В.,
СИНЕНЬКИЙ О., ПУКАЛЯК Р.*

Кафедра клінічної імунології та алергології, Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
КНП ЛОР «Львівський обласний клінічний діагностичний центр»
КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»
Львів, Україна

Антисинтезазний синдром (АСС) – клініко-лабораторний синдром, що формується в хворих з ідіопатичною запальною міопатією (поліміозитом – ПМ або дерматомиозитом – ДМ) і характеризується розвитком інтерстиційної хвороби легень (ІХЛ), а саме синдрому фіброзуючого альвеоліту, резистентністю до традиційної глюкокортикоїдної терапії та наявністю міозит-специфічних аутоантитіл [1].

Згідно даних епідеміологічних досліджень спостерігається ріст захворюваності на ДМ/ПМ у всьому світі з тенденцією до переважання у країнах Південної Європи, але особливо це фіксується в Південній Європі порівняно із Північною [2]. В середньому частота розповсюдження ПМ/ДМ в людській популяції становить від 6 випадків на 100 000 населення, зокрема АСС0.6 – на 100 000 [3]. Гендерні особливості АСС складають співвідношення жінок та чоловіків – 2–3:1 [2]. Захворювання частіше розвивається у віці від 5 до 15 років і від 45 до 65 років, тому виокремлюють ювенільну форму і дерматомиозит дорослих [2,3]. Етіологія первинного дерматомиозиту залишається невідома. Вважають, що в основі розвитку захворювання лежить патологічна активація системи комплементу під дією антигенів (наприклад, інфекційних збудників або деяких лікарських препаратів) і наступне вивільнення прозапальних цитокінів, збільшують синтез молекул адгезії на ендотеліальних клітинах та індукують міграцію активованих лімфоцитів (В-клітин, CD4+ -Т-лімфоцитів, плазмочитів) в перимізію та ендомізію [4].

Провідним клінічним проявом ПМ/ДМ є симетрична слабкість проксимальних відділів м'язів кінцівок, пов'язана з аутоімунним запаленням скелетної пошмугованої м'язової тканини. Найтипівішими проявами є неможливість підвестись з ліжка, підняти голову з горизонтального положення через слабкість м'язів шийного відділу. При ураженні м'язів глотки, гортані і верхньої третини стравоходу розвиваються дисфонія і дисфагія. У випадку ДМ спостерігається кутанний синдром, геліотропний пара-

орбітальний набряк, а також виражена сухість, лущення і тріщини на шкірі долонь, так звані «руки механіка» [1-3]. Ураження шкіри зазвичай передують появі м'язової слабкості або ж розвивається одночасно з нею. Шкірний висип може посилитися під дією ультрафіолетового випромінювання.

Виділяють атипіві варіанти дерматомиозиту, коли відсутні ознаки запалення м'язової тканини (аміопатичний дерматомиозит) або є лабораторні маркери ушкодження м'язової тканини, але без м'язової слабкості (гіпоміопатичний варіант) [5].

Патологія легень – провідний компонент антисинтезазного синдрому, який є найбільш важким і прогностично несприятливим підтипом ПМ/ДМ [6] і, окрім міозиту, характеризується гострим початком, гарячкою, ураженням шкіри, феноменом Рейно, неерозивним артритом або артралгіями. Дебютує переважно у весняний період. Такі пацієнти зазвичай резистентні до традиційної терапії, у них високий ризик загострень на тлі зниження дози ГК [6,7].

Труднощі своєчасної діагностики СФА при ПМ/ДМ пов'язана з його схожістю до ідіопатичного фіброзуючого альвеоліту (ІФА).

Лабораторними патогномонічними ознаками АСС є виявлення міозит-специфічних антисинтезазних антитіл (анти Jo-1, анти-Mi-2, анти PL-7, анти PL-12, анти-SRP та ін.), висока активність сироваткової креатинінфосфокінази (КФК), підвищення рівня креатиніну, а також аспартатамінотрансферази, лактатдегідрогенази, альдолази, хоча рівень КФК підвищений не завжди. Наприклад, анти-Mi2 антитіла (до ядерної ДНК гелікази) виявляються в 10-20% пацієнтів з дерматомиозитом і асоціюються із сприятливим перебігом захворювання [6], а наявність анти-TIF і анти-NXP-2 антитіл – із ймовірністю паранеопластичного дерматомиозиту [8,9]. Анти-SRP антитіла характерні для некротизуючого аутоімунного міозиту [9].

Характерні для запальної міопатії зміни виявляють під час проведення інструментальних

обстежень, а саме голкової електроміографії, яка дає можливість виявити локалізацію ураження, визначити ступінь порушення функції, стадію та характер патологічного процесу. Дане обстеження дає можливість контролювати ефективність призначеної терапії.

Комп'ютерна томографія високої роздільної здатності знімка використовується для виявлення пошкодження легеневої тканини.

MPT – рання діагностика захворювання завдяки виявленню набряку м'язової тканини, в т.ч., ще до появи клінічних ознак хвороби.

Функціональні легеневі тести, зокрема спірометрія – найпростіший і найбільш поширений метод для виявлення порушень вентиляційної функції легень.

Морфологічні дослідження. В основі ПМ, ДМ, а також міозиту з включеннями лежать різні патогенетичні механізми. Так, дерматомиозит є комплемент-залежною мікроангіопатією, що веде до руйнування капілярів, підвищеної інфільтрації плазмою та запальними клітинами в перифасцикулярних просторах. Запалення є здебільшого периваскулярне, але може поєднуватись з перифасцикулярною атрофією м'язових волокон. Наявність перифасцикуляр-

ної атрофії, навіть при відсутності запалення, підвищує ймовірність наявності дерматомиозиту [10].

При поліміозиті і спорадичних міозитах із включеннями в ендомізії спостерігаються множинні вогнища запалення, де виявляються CD8+ Т-клітини з експресією антигенів МНС-I, що розташовуються на поперехні більшості волокон. Комплекс МНС-I і CD8 + характерний для поліміозиту та АСС.

Запальні зміни при міозиті з включеннями, як правило, більш помітні на початку захворювання. Надалі переважають дегенеративні зміни (наприклад, «окреслені» вакуолі, включення тубулофіламентів). Крім того, спорадичний міозит з включеннями відрізняється наявністю вакуоль з депозитами амілоїду, зазвичай розташованими всередині або поряд з вакуолями [9, 10].

Нещодавно робоча група International Myositis Classification Criteria Project під егідою Американської колегії ревматологів (ACR) і Європейської антиревматичної ліги (EULAR) розроблені нові класифікаційні критерії дерматомиозиту та інших запальних міопатій на підставі обстеження 976 пацієнтів та 624 пацієнтів, які склали контрольну групу [11, 12].

Нові класифікаційні критерії запальних міопатій (IMCCP, ACR, EULAR, 2016)

Ознака	Бали
Вік дебюту захворювання від 18 до <40 років	1.6
Вік дебюту захворювання ≥40 років	2.3
Ураження м'язів	
Слабкість проксимальних м'язів рук	0.7
Слабкість проксимальних м'язів ніг	0.6
Згиначі шиї слабші за розгиначі шиї	1.6
Проксимальні м'язи ніг слабші за дистальні	1.5
Ураження шкіри	
Периорбітальний набряк	3.3
Папули Готтрона	2.3
Симптом Готтрона	3.4
Дисфагія або інші ознаки порушення моторики стравоходу	0.7
Лабораторні ознаки	
КФК	1.2
Анти-Jo-1	4.2
Сума балів *	
Дані біопсії	
Інфільтрація ендомізії мононуклеарами, які не інфільтрують м'язове волокно	1.6
інфільтрація перимізії або периваскулярної області	1.1
Перифасцикулярна атрофія	1.7

Примітка: * Якщо проведена біопсія, отриману суму необхідно помножити на 0,9 і додати до балів, отриманих при описі біопсії. При відсутності ураження шкіри біопсія обов'язкова. Висока ймовірність запальної міопатії, якщо загальний бал становить > 7,5 (> 8,7 при відсутності ураження шкіри) [11, 12].

Основу лікування складають глюкокортикоїди (ГК) в адекватній дозі (не менше 1 мг / кг / добу) протягом щонайменше 2,5-3 міс. з повільним подальшим зниженням дози до підтримую-

чої [10]. Ранній початок лікування асоціюється з більш сприятливим прогнозом. До препаратів другого ряду належать імуносупресанти (метотрексат, азатиоприн, циклоспорин А, мофетилу

мікофенолат). Препаратом вибору при розвитку інтерстиційного легеневого фіброзу є циклофосфамід (ЦФ) [13,14].

Представляють інтерес і особливості клінічного дебюту антисинтетазного синдрому з проявами СФА та синтезом міозитспецифічних антитіл на відміну від класичної маніфестації хвороби з кутанного або м'язового синдрому [14]. Наводимо власні спостереження хворого з антисинтетазним синдромом.

Пацієнт, 49 років, спостерігається на кафедрі клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького з 2009 року. Захворювання почалося із активних загальних симптомів (загальної слабкості, підвищеної стомлюваності, задишки, артралгій дрібних суглобів кистей, періодично виникала гарячка до 39°C).

В анамнезі: фотосенсибілізація з 2009 року з тенденцією до наростання. З'явилися болі в суглобах, м'язах, гарячка; почастишали герпетичні висипання, розвинулися артрити дрібних суглобів кистей рук, втрата ваги, міалгії, ШОЕ 85 мм / год, ревматоїдний фактор (РФ) 96 МО/мл (норма до 14), антицитрулінові антитіла (а-ССР) 21 Од/мл (норма < 7), 25-Гідроксивітамін D 16,4 нг/мл (норма >30).

Попередньо встановлено ревматоїдний артрит, проводилася терапія із застосуванням метотрексату 7,5 мг / тиждень, преднізолону 15 мг / добу з подальшим зменшенням дози до 5 мг / добу, однак ефект був короточасним. В 2011 р. самостійно припинив терапію через неефективність, при цьому утримувались суглобовий та міалгічний синдроми, стійкий субфебрилітет, ранкова скутість. У 2013 р. виявлені анемія (Hb 101 г/л), LE-клітини, антинуклеарні антитіла (АНА), що при відсутності ерозивного процесу на рентгенограмах кистей і стоп дозволило переглянути діагноз на користь системного червоного вовчака. Призначено преднізолон 40-30 мг / добу, далагіл 250 мг/добу. На цьому тлі зберігалися загальна слабкість, міалгії, субфебрилітет. З 2014 р. – набряк обличчя, гомілок, наростання м'язової слабкості на фоні різкого підвищення рівня креатинінфосфокінази. З 2014 року – епізоди гарячки до 39,0-40,0°C та наростання проксимальної м'язової слабкості, задишка, з'явився параорбітальний набряк, еритема шкіри шиї, ділянки декольте, передпліч, феномен Рейно. При госпіталізації в 2015 р. виявлено: кальцинат правої сідничної області та крепітацію в нижніх відділах обох легень. В аналізах крові – стійке збільшення рівня КФК до 466 Од / л (норма 39-308), АЛТ 365 Од / л, АСТ 206 Од / л, ЛДГ 919 (норма 225-450), Hb 104 г / л, ШОЕ 45 мм / год, кріоглобуліни +3, РФ 96, АНА 9,6 ОД, цистатин С 1.88 мг/мл, С-реактивний протеїн 96,3 мг/л (норма до 5), низькомолекулярні циркулюючі

іmunні комплекси 372 Од (норма до 115). Враховуючи високу лабораторну активність з включенням імунологічних показників, рекомендовано дообстеження сироваси на наявність міозитспецифічних антитіл (м'язово-скелетна панель «Polyscheck», BIOCHECK, Germany), в якій було виявлено анти-Jo-1 80,0 kU/l (норма до 4,5), PL-12 19 kU/l (норма до 4,5), PL-7 11 kU/l (норма до 4,5). При КТ грудної клітини визначалися поширені двосторонні дифузні інтерстиціальні зміни в нижніх відділах легень («матове скло»). ЖЕЛ 76%, DLCO 47%. Клініко-лабораторна картина відповідала діагнозу ДМ гострого перебігу з антисинтетазним синдромом. Проведена пульс-терапія: метипред 1000 мг в/в 5 днів у поєднанні з циклофосфаном в дозі 1000 мг 1 день, пероральна доза ГК підвищена до 60 мг / добу. На тлі терапії відзначалися зниження м'язової слабкості, зменшення задишки, тенденція до нормалізації рівня КФК і зниження рівня анти-Jo 1-антитіл до 47,6 kU/l (норма до 4,5), PL-12 9,4 kU/l (норма до 4,5), PL-7 4,8 kU/l (норма до 4,5), низькомолекулярні циркулюючі іmunні комплекси 160 Од (норма до 115). При зниженні дози ГК до 20 мг / добу через 6 міс терапії спостерігалися невелике збільшення вмісту КФК до 890 Од / л, помірна м'язова слабкість на фоні негативної динаміки КТ легень: консолідація фіброзних зон в базальних сегментах нижніх часток; утримуються ознаки «матового скла». Доза ГК знову підвищена до 40 мг/добу, циклофосфаміду – до 1200 мг / міс (по 600 мг на 2 тижні).

У 2019 р. при плановому обстеженні динаміка розцінена як позитивна (нормалізація рівня КФК і анти-Jo-1-антитіл до 6,5 Од / л), але недостатня, так як зберігалися інтерстиційні зміни на зразок «матового скла», за даними КТ легень, наростали ознаки фіброзу (формування «стільникової легені»). До терапії доданий мофетил мікофенолат 500 мг / добу. До 2020 року стан залишається стабільним, утримується незначна крепітація в нижніх відділах легень, більше справа, задишка при помірному фізичному навантаженні. На КТ легень – зменшення інтерстиційних змін. В даний час триває комбінована терапія з застосуванням глюкокортикостероїдів та мофетил мікофенолату.

Даний клінічний приклад об'єднує наявність класичного симптомокомплексу, характерного для антисинтетазного синдрому, із значущим порушенням в роботі іmunної системи. Виявлені високі титри анти-Jo-1-, PL-12 - PL-7-антитіл, рівень яких корелював з активністю легеневої патології, при цьому спостерігався ефект лікування (хоча і не цілковитий).

В західній літературі описані схожі випадки [14], коли у пацієнтів з прогресуючими змінами інтерстицію легеневої тканини, анти-Jo 1-антитіла не визначалися. Виходячи з цього, науковці

заперечують загальноприйнятту думку, що анти-Jo1 антитіла є прогностично несприятливими. Будучи предикторами ІХЛ, наявність анти-Jo-1 антитіл може вказувати на позитивну відповідь на терапію та сприятливий прогноз [14].

У багатьох публікаціях останніх років описано менш виражене м'язове ураження у хворих з антисинтетазним синдромом. Так, Uzunhan Y. і співавт. [15] вважають поганою прогностичною ознакою не лише серопозитивність за рахунок присутності антисинтетазних антитіл, але і низькі рівні КФК, а незначне зниження м'язової сили в поєднанні з синдромом фіброзуючого альвеоліту розцінюють як фактор ризику швидкопрогресуючої ІХЛ.

Антисинтетазний синдром залишається актуальною міждисциплінарною проблемою, обговорення якої із описом схожих клінічних випадків дасть можливість вчасної діагностики та терапії таких хворих.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антелава О.А., Насонов Е.Л. (2013) Фенотипические особенности и клиническая неоднородность антисинтетазного синдрома. *Соврем. ревматология*, 3: 41–46.
2. [Malik A, Hayat G, Kalia JS, Guzman MA. Idiopathic Inflammatory Myopathies: Clinical Approach and Management. *Front Neurol*. 2016;7:64. Published 2016 May 20. doi:10.3389/fneur.2016.00064].
3. [Marin FL, Sampaio HP. Antisynthetase Syndrome and Autoantibodies: A Literature Review and Report of 4 Cases. *Am J Case Rep*. 2019;20:1094-1103. Published 2019 Jul 25. doi:10.12659/AJCR.916178].
4. Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1734-1747. doi:10.1056/NEJMra1402225
5. McGrath ER, Doughty CT, Amato AA. Autoimmune Myopathies: Updates on Evaluation and Treatment. *Neurotherapeutics*. 2018;15(4):976-994. doi:10.1007/s13311-018-00676-2
6. Masiak A, Marzec M, Kulczycka J, Zdrojewski Z. The clinical phenotype associated with antisynthetase autoantibodies. *Reumatologia*. 2020;58(1):4-8. doi:10.5114/reum.2020.93505
7. Hervier B, Uzunhan Y. Inflammatory Myopathy-Related Interstitial Lung Disease: From Pathophysiology to Treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2020;6:326. Published 2020 Jan 17. doi:10.3389/fmed.2019.00326
8. González-Bello Y, Garcia-Valladares I, Reyes-Pérez IV, et al. Myositis-Specific Antibodies and Myositis-Associated Antibodies in Patients With Idiopathic Inflammatory Myopathies From the PANLAR Myositis Study Group [published online ahead of print, 2020 Feb 20]. *J Clin Rheumatol*. 2020;10.1097/RHU.0000000000001350. doi:10.1097/RHU.0000000000001350
9. Temmoku J, Sato S, Fujita Y, et al. Clinical significance of myositis-specific autoantibody profiles in Japanese patients with polymyositis/dermatomyositis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(20):e15578. doi:10.1097/MD.0000000000001557
10. Tirelli C, Morandi V, Valentini A, et al. Multidisciplinary Approach in the Early Detection of Undiagnosed Connective Tissue Diseases in Patients With Interstitial Lung Disease: A Retrospective Cohort Study. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:11. Published 2020 Feb 18. doi:10.3389/fmed.2020.00011
11. Leclair V, Lundberg IE. New Myositis Classification Criteria – What We Have Learned Since Bohan and Peter. *Curr Rheumatol Rep*. 2018;20:18. doi: 10.1007/s11926-018-0726-4.
12. Bolko L, Gitiaux C, Allenbach Y. Dermatomyosites Nouveaux anticorps, nouvelle classification [Dermatomyositis: new antibody, new classification]. *Med Sci (Paris)*. 2019;35 Hors série n° 2:18-23. doi:10.1051/medsci/2019178
13. Glaubitz S, Zeng R, Schmidt J. New insights into the treatment of myositis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2020;12:1759720X19886494. Published 2020 Jan 8. doi:10.1177/1759720X19886494
14. Cavagna L, Trallero-Araguás E, Meloni F, et al. Influence of Antisynthetase Antibodies Specificities on Antisynthetase Syndrome Clinical Spectrum Time Course. *J Clin Med*. 2019;8(11):2013. Published 2019 Nov 18. doi:10.3390/jcm8112013
15. Hervier B, Uzunhan Y. Inflammatory Myopathy-Related Interstitial Lung Disease: From Pathophysiology to Treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2020;6:326. Published 2020 Jan 17. doi:10.3389/fmed.2019.00326

РЕЗЮМЕ

АНТИСИНТЕТАЗНИЙ СИНДРОМ С ПОЗИЦІИ
КЛІНІЧЕСКОГО ІМУНОЛОГА

Ліщук-Якимович К., Чоп'як В.,
Синенький О., Пукаляк Р.

Кафедра клінічної імунології та алергології,
Львівський національний медичний університет імені
Данила Галицького, Україна
КНП ЛОР «Львівський обласний клінічний
діагностичний центр»

КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»,
Львів, Україна

Антисинтеазний синдром – это клинко-лабораторный синдром, который формируется у больных с идиопатической зажимательной миопатией и характеризуется развитием интерстициальной болезни легких, а именно синдрома фиброзирующий альвеолит, резистентностью к традиционной глюкокортикоидной терапии и наличием миозит-специфических аутоантител.

Представлено описание клинического случая диагностики антисинтеазного синдрома у пациента среднего возраста, который клинически проявился доминирующими в клинической картине тяжелым миалгическим синдромом, фотодерматозом, феноменом Рейно. Заболевание дебютировало кожным (гелiotропная эритема, эритематозные высыпания на коже верхней части туловища) и миалгическим симптомокомплексом, лихорадкой с присоединением суставного синдрома, диагностировано поражение легких (пульмонит и инфильтраты). При иммунологическом тестировании выявлены анти-Jo-1, PL-12-, PL-7-антитела («Polycheck», BIOCHECK, Germany). По прошествии нескольких лет у пациента был установлен антисинтеазный синдром. Применение комбинированной пульс-терапии циклофосфаном и метилпреднизолоном, а также добавление высоких доз витамина D3 способствовало регрессированию поражения легких и уменьшению активности дерматомиозита.

Ключевые слова: антисинтеазные антитела (Jo-1, PL-12, PL-7), антисинтеазный синдром, диагностика, клинический случай.

РЕЗЮМЕ

АНТИСИНТЕТАЗНИЙ СИНДРОМ З ПОЗИЦІИ
КЛІНІЧНОГО ІМУНОЛОГА

Ліщук-Якимович К., Чоп'як В.,
Синенький О., Пукаляк Р.

Кафедра клінічної імунології та алергології,
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
КНП ЛОР «Львівський обласний клінічний
діагностичний центр»

КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня», Львів, Україна

Антисинтеазний синдром – це клініко-лабораторний синдром, що формується в хворих з ідіопатичною запальною міопатією і характеризується розвитком інтерстиційної хвороби легень, а саме синдрому фіброзуючого альвеоліту, резистентністю до традиційної глюкокортикоїдної терапії та наявністю міозит-специфічних аутоантител.

Представлено опис клінічного випадку діагностики антисинтеазного синдрому у пацієнта середнього віку, який клінічно проявився важким міалгічним синдромом, фотодерматозом, феноменом Рейно. Захворювання дебютувало шкірним (гелiotропна еритема, еритематозні висипання на шкірі верхньої частини тулуба) та міалгічним симптомокомплексом, гарячкою з приєднанням суглобового синдрому, а також ураження легень (пульмоніт та інфільтрати). При імунологічному тестуванні виявлені анти-Jo-1, PL-12 - PL-7-антитіла («Polycheck», BIOCHECK, Germany). Протягом кількох років у пацієнта був встановлений діагноз антисинтеазний синдром. Застосування комбінованої пульс-терапії з використанням циклофосфану і метилпреднізолону, а також доєднання високих доз вітаміну D3 сприяло регресуванню ураження легень та зменшенню активності дерматомиозиту.

Ключові слова: антисинтеазні антитіла (Jo-1, PL-12, PL-7), антисинтеазний синдром, діагностика, клінічний випадок.

SUMMARY

ANTISYNTHEASE SYNDROME AND THE POSITION
OF CLINICAL IMMUNOLOGIST

Lishchuk-Yakymovych Kh., Chopyak V.,
Synenkyi O., Pukalyak R.

Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo
Halytskyi National Medical University
Municipal Non-Commercial Enterprise of Lviv Regional Council
«Lviv Regional Clinical Diagnostic Center»
Municipal Non-Commercial Enterprise of Lviv Regional Council «
Lviv Regional Clinical Hospital», Lviv, Ukraine

Antisynthetase syndrome is a clinical and laboratory syndrome that develops in patients with idiopathic inflammatory myopathy and is characterized by the development of interstitial lung disease, namely fibrosing alveolitis syndrome, resistance to traditional corticoid therapy and the presence of myositis-specific antibodies.

We present a clinical case of an antisynthetase syndrome in a middle-aged patient who has presented severe myalgic syndrome, photodermatosis, Raynaud's phenomenon. The disease debuted with cutaneous (heliotropic erythema, erythematous rash on the skin of the upper torso) and myalgic symptoms, fever with next adding of the joint syndrome, as well as lung damage (pulmonitis and infiltrates). Immunological testing revealed anti-Jo-1, anti-PL-12-, anti-PL-7 antibodies («Polycheck», BIOCHECK, Germany). Since years, the patient has got the diagnosis of antisynthetase syndrome. The use of combined pulse therapy with cyclophosphamide and methylprednisolone, as well as the addition of high doses of vitamin D3 has contributed to the regression of lung damage and reduction of dermatomyositis activity.

Key words: antisynthetase antibodies (Jo-1, PL-12, PL-7), antisynthetase syndrome, diagnostic, clinical case.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Чоп'як Валентина Володимирівна**
доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
м. Львів, Україна
тел.: (032) 237 61 42
E-mail: chopyakv@ukr.net
- **Чоп'як Валентина Владимировна**
доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого.
г. Львов, Украина
тел.: (032) 237 61 42
E-mail: chopyakv@ukr.net
- **Chopyak Valentna**
doctor of medical sciences, professor, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergy of Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky.
Lviv, Ukraine
tel.: (032) 237 61 42
E-mail: chopyakv@ukr.net
- **Ліщук-Якимович Христина Олександрівна**
кандидат медичних наук, доцент, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.
м. Львів, Україна
Моб. телефон: +380671512468
E-mail: k_yakymovych@ukr.net
- **Ліщук-Якимович Кристина Александровна**
кандидат медицинских наук, доцент, Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого.
г. Львов, Украина
Моб. телефон: +380671512468
E-mail: k_yakymovych@ukr.net
- **Lishchuk-Yakymovych Khrystyna**
Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Lviv National Medical University Danylo Halytsky.
Lviv, Ukraine
Mob.tel.: +380671512468
E-mail: k_yakymovych@ukr.net
- **Пукаляк Роман Михайлович**
кандидат медичних наук, асистент, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.
м. Львів, Україна
Моб. телефон: +380677153318
E-mail: rpukaljak@gmail.com
- **Пукаляк Роман Михайлович**
кандидат медицинских наук, ассистент, Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого.
г. Львов, Украина
Моб. телефон: +380677153318
E-mail: rpukaljak@gmail.com
- **Pukalyak Roman**
candidate of medical sciences, assistant, Lviv National Medical University. Danylo Halytsky.
Lviv, Ukraine
Mob.tel.: +380677153318
E-mail: rpukaljak@gmail.com
- **Синенький Омелян Володимирович**
кандидат медичних наук, асистент, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.
м. Львів, Україна
Моб. телефон: +380962419902
E-mail: synenkyu@i.ua
- **Синенький Омелян Владимирович**
кандидат медицинских наук, ассистент, Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого.
г. Львов, Украина
Моб. телефон: +380962419902
E-mail: synenkyu@i.ua
- **Sylenkyi Omelian**
candidate of medical sciences, assistant, Lviv National Medical University. Danylo Halytsky.
Lviv, Ukraine
Mob. телефон: +380962419902
E-mail: synenkyu@i.ua

Стаття надійшла до редакції 28.05.2020 р.

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА СЕЗОННИЙ АЛЕРГІЧНИЙ РИНОКОН'ЮНКТИВІТ (САРК). АНАМНЕСТИЧНІ ДАНІ ТА СТРУКТУРА СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ*КУЗНЄЦОВ О.Г.*

асистент кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології
Національної медичної академії післядипломної освіти (НМАПО)
імені П.Л. Шупика (м. Київ)

Вступ

Сезонний алергічний риніт – це АЗ слизових оболонок (переважно кон'юнктиви очей і слизової носа), що обумовлено гіперчутливістю до аерозольних алергенів пилку рослин і спор грибів, концентрація яких у повітрі періодично стає причиннозначущою [1, 3, 4].

Провідним клінічним проявом САРК вважається алергічний кон'юнктивіт. За статистикою, приблизно у 70-90% хворих з САРК розвивається пилковий кон'юнктивіт, що характеризується свербінням очей, вік, їх почервонінням, світлобоязню, слезотечею. Іноді явища кон'юнктивіту навіть більш виражені, ніж симптоми риніту, і істотно знижують якість життя хворих. Дана симптоматика називається рінокон'юнктивальним синдромом. Дані алергічного кон'юнктивіту займають провідне місце у групі захворювань, об'єднаної під загальною назвою «синдром червоного ока» [1,2,3,4]. Алергічний кон'юнктивіт може починатися гостро: нестерпний свербіж повік, печіння під віками, світлобоязнь, слезотеча, набряк і гіперемія кон'юнктиви. Набряк кон'юнктиви може бути настільки вираженим, що рогівка потопає у навколишній хемотичній кон'юнктиві. У таких випадках з'являються крайові інфільтрати у рогівці, як правило, в області очної щілини. Більш часто алергічний кон'юнктивіт протікає хронічно з помірним печінням під повіками, періодично виникає сверблячка повік.

Клінічно важливим є поєднання САРК і кон'юнктивіту. Незважаючи на те, що при САРК увагу зазвичай акцентують на назальних симптомах, більше 80% пацієнтів, як показує практика, страждають від симптомів з боку очей. За даними європейських і північноамериканських дослідників, більше 70% пацієнтів з САРК страждають одночасно від очних симптомів і назальних, причому їх ступінь вираженості більшість хворих оцінюють як середньотяжку або тяжку [1,3]. У ряді досліджень було показано, що очні симптоми підвищують роль риніту як провокуючого фактора розвитку бронхіальної астми і впливають на якість життя пацієнтів.

Діагностика САРК проводиться на підставі даних анамнезу, характерних клінічних симптомів, постановки шкірних проб з алергенами і виявлення алергенспецифічних антитіл класу імуноглобулінів Е (IgE) [6, 8].

Матеріали і методи

Клініко-анамнестичні дослідження проведені у 120 хворих віком від 19 до 45 років, які знаходились на лікуванні у ТОВ Клініка імунології та алергології «Форпост» з приводу сезонного алергічного риніту та кон'юнктивіту, викликаного пилком рослин (МКБ-10-J30.1). Діагноз сезонного алергічного риніту (САР) встановлювали згідно наказу МОЗ України № 432 від 03.07.2006 року. Усіх досліджуваних хворих було розподілено за ступенем тяжкості перебігу захворювання: 58 хворих із середньотяжким перебігом сезонного алергічного риніту та кон'юнктивітом (САРК), який викликано пилком амброзії та 62 хворих із тяжким перебігом САРК, який викликано пилком амброзії. З них 43 (35,8%) жінок, 77 (64,1%) чоловіків, віком від 19 до 25 років – 76 (63,3%), від 25 до 45 років – 44 (36,6%) хворих [1, 3].

Групу контролю склали 30 здорових осіб. Для верифікації клінічного діагнозу САРК, викликаного пилком амброзії, використовували аналіз скарг, дані анамнезу та результати об'єктивного дослідження хворих, при якому звертали увагу на порушення носового дихання, характеру відокремлюваного порожнини носу, свербежу та тертя носу, почервоніння повік.

Усім хворим проводились загальноклінічні лабораторні методи дослідження. При надходженні до стаціонару усім хворим проводилась риноскопія, за допомогою якої виявлявся нерівномірний окрас слизової носових раковин: від блідо-рожевого, плямистого до синюшного та блідо-матового.

Впродовж першої доби риноскопична картина слизової порожнини носа у хворих на САРК змінювалась від блідо-рожевого до синюшного окрасу та ставала набряклою, водянистою, блискучою з прозорим слизовим секретом, що

виділяється, з переважанням вираженого набряку слизової порожнини носа. При проведенні задньої риноскопії у хворих на САРК виявлялося валикоподібне ущільнення слизової оболонки задніх відділів сошників, набряк задніх кінців нижніх носових раковин.

Усі хворі, що надходили до стаціонару, були проконсультовано ЛОР-лікарями на предмет виключення вроджених аномалій розвитку, різних видів викривлення носової перегородки (шипи, гребні тощо), злякисні новоутворення носу та носоглотки.

Проводилась рентгенографія придаткових пазух носу. Ретельно проводили аналіз алергологічного анамнезу, при зборі якого активно з'ясовували дані, що свідчили про ознаки алергічних змін реактивності організму: спадкова обтяженість алергічними захворюваннями, ознаки алергічного дерматиту, алергічні реакції на харчові продукти, на лікарські препарати, особливості перебігу САР (частота та тривалість загострень) [3, 4].

Результати досліджень

Нами проведена диференціація анамнезу інфекційних захворювань досліджених пацієнтів, результати якої наведено у таблиці 1. За даними

таблиці 1 у досліджених хворих на САРК із середньотяжким перебігом, гостре респіраторне захворювання (ГРЗ) спостерігалось у 54 (26,9%) хворих, вітряна віспа – у 16 (8,0%), епідемічний паротит – у 12 (6,0%), кір – у 11 (5,5%), вірусний гепатит – у 4 (1,9%) хворих, гострий бронхіт – у 36 (17,9%), пневмонія – у 17 (8,5%), скарлатина – у 6 (2,9%), кишкова інфекція – у 7 (3,5%), ангіна – у 25 (12,4%), отит – у 13 (6,5%) хворих.

У хворих з тяжким перебігом САРК, ГРЗ спостерігалось у 59 (23,3%) хворих, вітряна віспа – у 24 (9,5%), епідемічний паротит – у 18 (7,1%), кір – у 16 (6,3%), вірусний гепатит – у 7 (2,8%), гострий бронхіт – у 43 (17%), пневмонія – у 19 (7,5%), скарлатина – у 8 (3,2%), кишкова інфекція – у 9 (3,6%), ангіна – у 32 (12,6%), отит – у 18 (7,1%) хворих.

Аналізуючи структури інфекційних захворювань в анамнезі у досліджуваних хворих на САРК, потрібно підкреслити, що у їх структурі переважає інфекційний процес у верхніх дихальних шляхах та у бронхо-легеневій системі, що призводить до виснаження неспецифічних та специфічних факторів імунітету, формування вторинного імунодефіцитного стану у даних системах.

Таблиця 1

Перенесені інфекційні захворювання у досліджених хворих на САРК

Перенесені захворювання	Хворі на САРК з перебігом захворювання			
	середньотяжкий		тяжкий	
	n=58		n=62	
	абс.	%	абс.	%
Гостре респіраторне захворювання	54	26,9	59	23,3
Вітряна віспа	16	8,0	24	9,5
Епідемічний паротит	12	6,0	18	7,1
Кір	11	5,5	16	6,3
Вірусний гепатит	4	1,9	7	2,8
Гострий бронхіт	36	17,9	43	17,0
Пневмонія	17	8,5	19	7,5
Скарлатина	6	2,9	8	3,2
Кишкова інфекція	7	3,5	9	3,6
Ангіна	25	12,4	32	12,6
Отит	13	6,5	18	7,1
Всього	201	1000	153	100

Поряд з високим інфекційним індексом у хворих на САРК при надходженні до стаціонару мали місце різноманітні супутні захворювання (табл. 2).

Спектр супутніх захворювань у хворих на САРК з середньотяжким перебігом визначається високим відсотком атопічного дерматиту – 11 (19%), вторинної кардіопатії – 15 (25,9%),

хронічним гастритом – 19 (32,8%), хронічним гастродуоденітом – 22 (37,9%), хронічним холециститом – 21 (36,2%), дискінезією жовчовивідних шляхів – 17 (29,3%), сполучнотканиною дисплазією – 16 (27,6%), харчової алергії – 18 (31,0%), дисбактеріозом кишечника – 23 (39,7%).

Таблиця 2

Наявність супутніх захворювань у досліджуваних хворих на САРК

Супутні захворювання	Хворі на САРК з перебігом захворювання			
	середньотяжкий		тяжкий	
	n=58		n=62	
	абс.	%	абс.	%
Карієс	7	12,1	9	14,5
Хронічний тонзиліт	9	15,5	17	27,4
Атопічний дерматит	11	19,0	22	35,5
Вторинна кардіопатія	15	25,9	19	30,6
Хронічний гастрит	19	32,8	27	43,5
Хронічний гастродуоденіт	22	37,9	28	45,2
Хронічний холецистит	21	36,2	29	46,8
Хронічний панкреатит	6	10,3	12	19,4
Дискінезія жовчовивідних шляхів	17	29,3	21	33,9
Дисметаболична нефропатія	8	13,8	12	19,4
Інфекція сечовивідних шляхів	7	12,1	11	17,7
Сполучнотканинна дисплазія (ПМК, сколіоз, плоскостопість)	16	27,6	26	41,9
Алергічна реакція на лікарські препарати	6	10,3	10	16,1
Харчова алергія	18	31,0	25	40,3
Дисбактеріоз кишечника	23	39,7	34	54,8

У хворих з тяжким перебігом САРК високий відсоток супутньої патології представлений хронічним тонзилітом – 17 (27,4%), атопічним дерматитом – 22 (35,5%), вторинною кардіопатією – 19 (30,6%), хронічним гастритом – 27 (43,5%), хронічним гастродуоденітом – 28 (45,2%), дискінезією жовчовивідних шляхів – 21 (33,9%), сполучнотканинною дисплазією – 26 (41,9%), харчовою алергією – 25 (40,3%), дисбактеріозом кишечника – 34 (54,8%).

Високий відсоток супутньої патології у хворих на САРК призводить до сенсibiliзації організму та обтяженню статусу неспецифічної і специфічної імунореактивності організму, але при загостренні атопічних і самотичних захворювань може викликати рецидив у даного контингенту хворих [1, 3, 4, 8].

Звертає на себе увагу частота та характер скарг хворих на САРК при надходженні до стаціонару у період загострення, що представлено у табл. 3.

Як бачимо із даних, що представлені у табл. 3, закладеність носу у хворих із середньотяжким перебігом САРК було виявлено у 37 (63,8%). При цьому частка симптомів, що пов'язана з ураженням носових ходів, була представлена у 42 (72,4%) хворих свербіжом у області носу, у 47 (81,0%) хворих водянистими виділення з носу, у 33 (56,9%) – багатократним чиханням, у 24 (41,4%) – зниження нюху, у 5 (8,6%) – аносмією. Очні симптоми при середньотяжкому перебігу САРК представлені сльозотечею – у 18 (31,0%), печінням у області очей – у 39 (67,2%), свербіжом у області повік – у 22 (38,0%), гіперемією повік – у 23 (39,7%). Загальна симптоматика представлена слабкістю – у 34 (58,6%), підвищеною стомлюваністю – у 32 (55,2%), підвищеною роздратованістю – у 26 (44,8%), запоененням – у 15 (25,9%), головним болем – у 12 (20,7%), тахікардією – у 23 (39,6%), порушенням сну – у 16 (27,6%).

Таблиця 3

Скарги обстежених хворих на САРК на момент надходження до стаціонару у період загострення

Симптоми	Хворі на САРК з перебігом захворювання			
	середньотяжкий		тяжкий	
	n=58		n=62	
	абс.	%	абс.	%
Закладеність носу	37	63,8	58	93,5
Свербіж у області носу	42	72,4	55	88,7
Водянисті виділення з носу	47	81,0	56	90,3
Багаторазове чхання	33	56,9	44	70,3

Продовження таблиці

Симптоми	Хворі на САРК з перебігом захворювання			
	середньотяжкий		тяжкий	
	n=58		n=62	
	абс.	%	абс.	%
Зниження нюху	24	41,4	29	46,8
Аносмія	5	8,6	9	14,5
Сльозотеча	18	31,0	28	45,2
Печія у області очей	39	67,2	52	83,9
Свербіж у області повік	22	38,0	33	53,2
Гіперемія повік	23	39,7	43	69,3
Слабкість	34	58,6	46	74,2
Підвищена стомлюваність	32	55,2	39	63,0
Підвищена роздратованість	26	44,8	42	67,7
Занепокоєння	15	25,9	26	41,9
Головний біль	12	20,7	27	43,5
Тахікардія	23	39,6	36	58,1
Порушення сну	16	27,6	24	38,7

Як бачимо із даних, що представлені у табл. 3, закладеність носу у хворих із середньотяжким перебігом САРК, було відзначено у 37 (63,8%) хворих. При цьому частка симптомів, що пов'язана з ураженням носових ходів, була представлена свербіжом у області носу у 42 (72,4%) хворих, водянистими виділеннями з носу – у 47 (81,0%) хворих, багатократним чиханням – у 33 (56,9%) хворих, зниженням нюху – у 24 (41,4%) хворих, аносмією – у 5 (8,6%) хворих. Очні симптоми при середньотяжкому перебігу САРК представлені сльозотечею – у 18 (31,0%) хворих, печінням у області очей – у 39 (67,2%) хворих, свербіжом у області повік – у 22 (38,0%) хворих, гіперемією повік – у 23 (39,7%) хворих. Загальна симптоматика представлена слабкістю – у 34 (58,6%) хворих, підвищеною стомлюваністю – у 32 (55,2%) хворих, підвищеною роздратованістю – у 26 (44,8%) хворих, занепокоєнням – у 15 (25,9%) хворих, головним болем – у 12 (20,7%) хворих, тахікардією – у 23 (39,6%) хворих, порушенням сну – у 16 (27,6%) [1, 3, 4].

У хворих з тяжким перебігом САРК відмічалась закладеність носу – у 58 (93,5%) хворих, свербіж у області носу – у 55 (88,7%) хворих, водянисті виділення з носу – у 56 (90,3%) хворих, багаторазове чхання – у 44 (70,3%) хворих, зниження нюху – у 29 (46,8%) хворих, аносмія – у 9 (14,5%) хворих. Очні симптоми у хворих з тяжким перебігом САРК представлені сльозотечею – у 28 (45,2%) хворих, печією у області очей – у 52 (83,9%) хворих, свербіжом у області повік – у 33 (53,2%) хворих, гіперемією повік – у 43 (69,3%) хворих [3,4].

Загальна симптоматика. Слабкість спостерігалась у 46 (74,2%) хворих, підвищена стомлюваність – у 39 (63,0%) хворих, підвищена

роздратованість – у 42 (67,7%) хворих, стурбованість – у 26 (41,9%) хворих, головний біль – у 27 (43,5%) хворих, тахікардія – у 36 (58,1%), порушення сну – у 24 (38,7%) (табл.3).

Узагальнюючи матеріали оцінки супутніх захворювань та провідних скарг у загальноклінічному статусі досліджуваних хворих на САРК, можна припустити, що на стадіях клінічної реалізації САРК у хворих розвивається імунопатологічний процес, у патогенезі якого мають місце специфічні, параспецифічні та неспецифічні алергічні реакції організму.

Усім хворим із середньотяжким і тяжким перебігом САРК проводились цитоморфологічні дослідження мазку-передруку зі слизової оболонки носу [3, 4, 6].

Обговорення досліджень

Результати досліджень представлені в таблиці 4, які відображають наявність алергічного запалення із еозинофільною інфільтрацією, тоді як показники нейтрофільної інфільтрації були у межах нормативних показників, що виключало наявність інфекційного запалення слизової оболонки носу у даного контингенту хворих. Наявність достовірних відмінностей ($p < 0,05$) показника лімфоцитів у цитологічному мазку-передруку зі слизової носу у пацієнтів з тяжким перебігом САРК може вказувати на можливе переключення патологічного процесу на пізню фазу алергічного запалення з наступним розвитком реакції гіперчутливості негайного типу. Наявність клітин плоского епітелію вказує на період загострення захворювання, достовірно ($p < 0,05$) відображаючи ступінь запальної алергічної реакції у пацієнтів з тяжким перебігом САРК [3, 4, 7, 8].

Таблиця 4

Дані цитоморфологічних досліджень мазку-передруку із слизової порожнини носу у хворих на САРК в періоді загострення

Показники, %	Хворі на САРК з перебігом захворювання	
	середньотяжкий	тяжкий
	n=58	n=62
Еозинофіли (0,00 – 5,00 %)	7,0	14,0*
Нейтрофільні лейкоцити (65,0 – 70,0)	64,0	66,0
Лімфоцити (0,00 – 5,00 %)	3,0	10,0*
Епітелій слизової оболонки: клітини плоского епітелію (0,00 – 10,0)	16,0	28,0*
Клітини призматичного епітелію (0,00 – 1,00)	1,0	3,0
Ядра неідентифікованих клітин	0	2

Примітка. * – достовірність результатів (p<0,05) між показниками важкого і середньотяжкого перебігу САРК.

При вивченні даних результатів гемограми у хворих на САРК звертає на себе увагу достовірне (p<0,05) збільшення еозинофілів у хворих з тяжким перебігом, хворих із середньотяжким перебігом і групою здорових осіб.

Також має місце достовірне (p<0,05) збільшення базофілів від середньотяжкого до важкого перебігу захворювання. Ці зміни вказують на

те, що патогенез САРК пов'язаний з гістамін-активними продуктами, анафілотоксинами та цитокінами, що виробляються цими клітинами. У той же час звертає на себе увагу зниження нейтрофілів і моноцитів, що може свідчити про недостатність фагоцитарної реакції організму у даного контингенту хворих (табл. 5).

Таблиця 5

Дані клінічного аналізу крові досліджуваних хворих на САРК у період загострення, M±m

Показники клінічного аналізу крові	Хворі на САРК з перебігом захворювання		Група контролю, n=30
	середньотяжкий	тяжкий	
	n=58	n=62	
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,6±0,44	4,3±0,34	4,9±0,28
Кольоровий показник	0,83±0,07	0,84±0,08	0,86±0,09
Гемоглобін, г/л	143,2±5,83	138,6±6,35*	154±4,6
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	5,9±0,42	4,5±0,23*	8,2±0,69
Нейтрофіли паличкоядерні, %	3,5±0,23	3,2±0,28	4,0±0,21
Нейтрофіли сегментоядерні, %	51,4±3,42*	46,8±2,69*	59,9±0,6
Еозинофіли, %	8,6±1,16*	11,9±1,18*	3,5±0,38
Базофіли, %	3,4±0,32*	4,5±0,33*	0,9±0,32*
Лімфоцити, %	27,3±1,24*	25,6±1,67*	34,6±0,72
Моноцити, %	3,7±0,29	2,6±0,22*	3,2±0,3
ШОЕ мм/г	7,7±0,53	8,5±1,14	7,6±2,1

Примітка. * – достовірні відмінності між показниками ступеня тяжкості САРК та здорових донорів (p<0,05).

У клінічному аналізі крові звертає на себе увагу зниження лімфоцитів при середньотяжкому та важкому перебігу захворювання, що мабуть пов'язане з перерозподілом їх з кров'яного русла до верхніх дихальних шляхів з наступною реалізацією реакції гіперчутливості негайного типу.

При вивченні біохімічних показників крові у хворих на САРК у період загострення встановлено, що найбільші зміни спостерігаються

з боку ендogenous холестерину та фосфоліпідів, що може вказувати на неспроможність макрофагальної ланки імунітету. У той же час β-ліпопротеїди та НЕЖК були збільшені тільки у групі хворих з тяжким перебігом САРК (табл. 6). Збільшення фосфоліпідів у сироватці крові групи хворих з тяжким перебігом САРК може вказувати на реалізацію пізньої фази алергічного запалення на клітинно-тканинній структурі слизової носу [1, 3, 4, 5, 7, 8].

Таблиця 6

Деякі біохімічні показники досліджуваних хворих на САРК у період загострення, M±m

Біохімічні показники	Хворі на САРК з перебігом захворювання		Група контролю, n=30
	середньотяжкий	тяжкий	
	n=58	n=62	
Холестерин, ммоль/л	5,46±1,08	8,37±1,29*#	4,82±0,58
Фосфоліпіди, ммоль/л	6,12±1,14*	8,96±1,25*#	3,12±0,29
β-ліпопротеїди, ммоль/л	4,07±0,24	5,88±0,56*#	4,63±0,52
НЕЖК, ммоль/л	0,43±0,05	0,79±0,08*#	0,48±0,06

Примітки: * – достовірні відмінності показників ступенів тяжкості САРК та здорових донорів (p<0,05);
– достовірні відмінності показників ступенів тяжкості та здорових осіб (p<0,05);
β – достовірні відмінності показників середньої тяжкості та здорових осіб (p<0,05).

Для з'ясування рівня сенсibilізації досліджених хворих на САРК у період клінічної ремісії захворювання нами проведені алергологічні (скарифікаційні) проби до епідермальних та харчових алергенів. Дані результатів скарифікаційних проб представлені у табл. 7, 8.

Аналізуючи дані алергопроб, слід відмітити, що найбільш часто позитивні реакції на епідермальні алергени у хворих на САРК при середньотяжкому перебігу у період ремісії відмічалися на домашній пил – у 22 (37,9%) хворих, вовну собаки – у 25 (43,1%) хворих, лупу собаки – у 27 (46,6%) хворих; на харчові алергени: на шоколад – у 34 (58,6%) хворих, яйця – у 35 (60,3%) хворих, диню – у 36 (62,1%) хворих, кабачки – у 42 (72,4%) хворих, кавун – у 34 (58,6%) хворих, баклажани – у 43 (74,1%) хворих, огірки – у 38 (65,5%) хворих.

Як бачимо з представлених даних алергопроб, на фоні високої епідермальної сенсibilізації звертає на себе увагу високі показники на

харчові продукти, які у своїй структурі містять перехресні алергени з амброзією.

При тяжкому перебігу САРК у період ремісії хворих найбільша частота позитивних реакцій на епідермальні алергени визначалась: на вовну кішок – у 40 (64,5%) хворих, лупи собаки – у 43 (69,4%) хворих, на харчові алергени, у складі яких містяться перехресні алергени з амброзією: дині – у 43 (69,4%) хворих, кабачки – у 44 (71,0%) хворих, кавуни – у 39 (62,9%) хворих, баклажанів – у 42 (67,7%) хворих, огірки – у 39 (62,9%) хворих, капусти – у 43 (69,4%) хворих [3, 4].

Аналіз отриманих алергологічних досліджень вказує на високий рівень сенсibilізації, особливо до харчових продуктів, що містять перехресні алергени із амброзією. Використання їх у раціоні харчування хворих на САРК може призводити до підвищеної дегрануляційної активності ефektorних клітин по викиду біологічних активних речовин та розвитку рецидиву захворювання.

Таблиця 7

Алергологічні проби хворих на САРК з середньотяжким перебігом у період ремісії

Назва алергену	Реакція на САРК з середньотяжким перебігом					
	негативна		сумнівна		позитивна	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Епідермальні						
Домашній пил	1	1,7	15	25,9	22	37,9
Вовна собаки	9	15,5	11	19,0	25	43,1
Вовна кішки	8	13,8	13	22,4	19	32,8
Лупа собаки	7	12,1	10	17,2	27	46,6
Харчові						
Коров'яче молоко	12	20,7	21	36,2	23	39,7
Яловичина	23	39,7	18	31,0	9	15,5
Риба	4	6,9	12	24,1	28	48,3
Курятина	5	8,6	9	15,5	14	24,1
Кролик	33	56,9	11	18,9	4	6,9
Апельсин	7	12,1	8	13,8	32	55,2
Шоколад	5	8,6	7	12,1	34	58,6
Томати	8	13,8	9	15,5	33	56,9
Яйце	6	10,3	7	12,1	35	60,3
Мед	7	12,1	8	13,8	28	48,3

Продовження таблиці

Назва алергену	Реакція на САРК з середньотяжким перебігом					
	негативна		сумнівна		позитивна	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Диня	3	5,2	11	18,9	36	62,1
Кабачки	2	3,4	12	20,7	42	72,4
Кавун	4	6,9	14	24,1	34	58,6
Баклажани	3	5,2	10	17,2	43	74,1
Огірки	2	3,4	9	15,5	38	65,5
Капуста	4	6,9	12	20,7	32	55,2

Таблиця 8

Алергологічні проби хворих на САРК з тяжким перебігом у період ремісії

Назва алергену	Реакція хворих на САРК з тяжким перебігом					
	негативна		сумнівна		позитивна	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Епідермальна						
Домашній пил	0	0	9	14,5	34	54,8
Вовна собаки	2	3,2	6	9,7	32	51,6
Вовна кішки	4	6,5	10	16,1	40	64,5
Лупа собаки	3	4,8	7	11,3	43	69,4
Харчова						
Коров'яче молоко	14	22,6	16	25,8	18	29,0
Яловичина	21	33,9	17	27,4	16	25,8
Риба	5	8,1	20	32,3	32	51,6
Курятина	4	6,5	14	22,6	26	41,9
Кролик	32	51,6	12	19,4	5	8,1
Апельсин	6	9,7	11	17,7	34	54,8
Шоколад	5	8,1	13	21,0	35	56,5
Томати	4	6,5	15	24,2	27	43,5
Яйце	3	4,8	17	27,4	29	46,8
Мед	6	9,7	14	22,6	36	58,1
Диня	4	6,5	10	16,1	43	69,4
Кабачки	3	4,8	12	19,4	44	71,0
Кавун	5	8,1	11	17,7	39	62,9
Баклажани	2	3,2	10	16,1	42	67,7
Огірки	3	4,8	13	21,0	39	62,9
Капуста	4	6,5	14	22,6	43	62,4

Висновки

Таким чином, проведені дослідження анамнестичних даних, структури супутньої патології, лабораторних показників алергологічних досліджень показало, що САРК формується на тлі прогресуючої сенсibiliзації та алергізації організму, на якому реалізується прояв алергічних реакцій, що формують тяжкість перебігу САРК, і на силу імунної відповіді на різноманітні екзоалергени, що визначають типи імунopatологічних реакцій організму у даного контингенту хворих.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Актуальні питання алергології в практиці сімейного лікаря: навчальний посібник для лікарів – інтернів і лікарів слухачів закладів

(факультетів) післядипломної освіти / за ред. акад. НАМН України, проф. Вороненко Ю. В., проф. Шекери О. Г., проф. Кузнецової Л. В. та ін. – К.: Серія «Сімейна медицина». - Видавець Заславський О.Ю., 2016. – 324 с.

2. Біловол О.М. Клінічна імунологія та алергологія // Навчальний посібник медичних ВНЗ IV рівня акредитації та медичних факультетів університетів / за редакцією: член-кореспондента АМНУ, д.м.н., професора О.М. Біволола, д.м.н., професора П.Г. Кравчуна, д.м.н., професора В.Д. Бабаджана, д.м.н., професора Л.В. Кузнецової / О.М. Біловол, П.Г. Кравчун, В.Д. Бабаджан, Л. В. Кузнецова [та ін.] – Харків «Гриф», 2011. – 549 с.

3. Вороненко Ю. В. Алергологія / Ю. В. Вороненко, Б. М. Пухлик, А. М. Пілецький [та ін.] / підручник під редакцією д.м.н., проф. Л. В. Кузнецової. Рекомендовано Міністерством освіти та науки України. – Київ, 2008. – 365 с.
4. Кузнецова Л. В. Поліноз та його прояви: діагностика, особливості лікування: монографія / Л. В. Кузнецова. – Київ, 2009. – 92 с.
5. Кузнецова Л. В. «Імунологія» // Національний підручник за загальною редакцією д.м.н., професора Л. В. Кузнецової, д.м.н., професора В. Д. Бабаджана, член-кореспондента НАМН України, професора Н. В. Харченко. Затверджено Міністерством освіти і науки України (протокол від 30.12.2008 № 14/18 – г-2951.1) і Міністерством охорони здоров'я України (протокол від 14.11.2013 р. № 4) як національний підручник для лікарів – курсантів післядипломної освіти, лікарів – інтернів і студентів вищих медичних навчальних закладів ІУ рівня акредитації. – ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2013 – 564 с.
6. Кузнецов О. Г. Лікування алергічних ринітів в сучасних умовах / О. Г. Кузнецов, Л. С. Осипова, Л. В. Кузнецова, А. В. Грем'яков // Матеріали (тези) науково-практичної конференції з міжнародною участю «Імунозалежні та алергічні стани: сучасна лабораторна імунологічна діагностика, лікування та профілактика», 29 – 30 березня 2012 року, м.Київ – С. 71 – 72.
7. Кузнецов А. Г. Состояние иммунитета и коррекция нарушений у больных поллинозом с сенсibilизацией к пыльце амброзии на фоне кишечного микробиоценоза и нарушения пищевого статуса // Матеріали (тези) науково-практичної конференції з міжнародною участю «Імунологія та алергологія: перспективи розвитку», 03 - 04 жовтня 2013 р., м.Київ – С.29 – 30.
8. Кузнецов О. Г. Зміна показників клітинного імунітету у хворих на поліноз із сенсibilізацією до пилку амброзії під впливом імунотерапії // Матеріали (тези) науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бронхіальна астма, алергія, імунологія – сучасні досягнення та перспективи розвитку», присвяченої 30 річчю з дня заснування кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології НМАПО імені П.Л.Шупика, 26.-27.03.2015 р., м. Київ. – С. 47.

РЕЗЮМЕ

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ СЕЗОННЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНОКОНЬЮНКТИВИТОМ (САРК). АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ И СТРУКТУРА СОПУТСТВУЮЩЕЙ ПАТОЛОГИИ

Кузнецов А. Г.

ассистент кафедры клинической, лабораторной иммунологии и аллергологии Национальной медицинской академии последипломного образования (НМАПО) имени П.Л. Шупика (г. Киев)

Вступление. Сезонный аллергический ринит – это АЗ слизистых оболочек (в основном конъюнктивы глаз и слизистой носа), что обусловлено гиперчувствительностью к аэрозольным аллергенам пыльцы растений и спор грибов, концентрация которых в воздухе периодически становится причиннозначимой.

Ведущим клиническим проявлением САР считается аллергический конъюнктивит. По статистике, примерно у 70-90% больных с САР развивается пылевой конъюнктивит, характеризующийся зудом глаз, век, их покраснением, светобоязнью, слезотечением. Клинически важным является сочетание САР и конъюнктивита. Несмотря на то, что при САР внимание обычно акцентируют на назальных симптомах, более 80% пациентов, как показывает практика, страдают от симптомов со стороны глаз. По данным европейских и североамериканских исследователей, более 70% пациентов с САР страдают одновременно от глазных и назальных симптомов, причем их степень выраженности большинство больных оценивают как среднетяжелую или тяжелую.

Материалы и методы. Клинико-анамнестические исследования проведены у 120 больных в возрасте от 19 до 45 лет. Все исследуемые больные были распределены по степени тяжести течения заболевания: 58 больных со среднетяжелым течением сезонного аллергического ринита и конъюнктивита (САРК), который вызван пылью амброзии и 62 больных с тяжелым течением САРК, который вызван пылью амброзии. Из них 43 (35,8%) женщин, 77 (64,1%) мужчин в возрасте от 19 до 25 лет – 76 (63,3%), от 25 до 45 лет – 44 (36,6%) больных. Группу контроля составляли 30 здоровых человек.

Результаты исследований. Проведена дифференциация анамнеза инфекционных заболеваний исследованных пациентов. У исследованных больных САРК со среднетяжелым течением, острое респираторное заболевание (ОРЗ) наблюдалось у 54 (26,9%) больных, ветряная оспа – у 16 (8,0%), эпидемический паротит – у 12 (6,0%), корь – у 11 (5,5%), вирусный гепатит – у 4 (1,9%) больных, острый бронхит – у 36 (17,9%), пневмония – у 17 (8,5%), скарлатина – у 6 (2,9%), кишечная инфекция – у 7 (3,5%), ангина – у 25 (12,4%), отит – у 13 (6,5%) больных.

У больных с тяжелым течением САРК, ОРЗ наблюдалось у 59 (23,3%) больных, ветряная оспа – у 24 (9,5%), эпидемический паротит – у 18 (7,1%), корь – у 16 (6,3%), вирусный гепатит – у 7 (2,8%), острый бронхит – у 43 (17%), пневмония – у 19 (7,5%), скар-

латина – у 8 (3,2%), кишечна інфекція – у 9 (3,6%), ангіна – у 32 (12,6%), отит – у 18 (7,1%) больних.

Аналізуючи структури інфекційних захворювань в анамнезі у досліджуваних больних САРК, потрібно підкреслити, що в їх структурі переважає інфекційний процес в верхніх дихальних путях і в бронхо-легочній системі, що призводить до истощення неспецифічних і специфічних факторів імунітету, формування вторинного імунодефіцитного стану в даних системах.

Обсуждение исследований. При изучении биохимических показателей крови у больных САРК в период обострения установлено, что наибольшие изменения наблюдаются со стороны эндогенного холестерина и фосфолипидов, что может указывать на несостоятельность макрофагального звена иммунитета. В то же время β-липопротеиды и НЕЖК были увеличены только в группе больных с тяжелым течением САРК. Увеличение фосфолипидов в сыворотке крови группы больных с тяжелым течением САРК может указывать на реализацию поздней фазы аллергического воспаления на клеточно-тканевые структуры слизистой носа.

Выводы. Проведенные исследования анамнестических данных, структуры сопутствующей патологии, лабораторных показателей аллергологических исследований показало, что САРК формируется на фоне прогрессирующей сенсибилизации и аллергии организма, на котором реализуется проявление аллергических реакций, формирующих тяжесть течения САРК, и на силу иммунного ответа на разнообразные экзоаллергены, определяющих типы иммунопатологических реакций организма у данного контингента больных.

Ключевые слова: сезонный аллергический риноконъюнктивит, пыльца амброзии.

РЕЗЮМЕ

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА СЕЗОННИЙ АЛЕРГІЧНИЙ РИНОКОН'ЮНКТИВІТ (САРК). АНАМНЕСТИЧНІ ДАНІ ТА СТРУКТУРА СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ

Кузнєцов О. Г.

асистент кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології
Національної медичної академії післядипломної освіти (НМАПО)
імені П. Л. Шупика (м. Київ)

Вступ. Сезонний алергічний риніт – це АЗ слизових оболонок (переважно кон'юнктиви очей і слизової носа), що обумовлено гіперчутливістю до аерозольних алергенів пилку рослин і спор грибів, концентрація яких у повітрі періодично стає причиннозначущою.

Провідним клінічним проявом САР вважається алергічний кон'юнктивіт. За статистику, приблизно у 70-90% хворих з САР розвивається пилковий кон'юнктивіт, що характеризується свербінням очей, повік, їх почервонінням, світлобоязню, слезотечею. Клінічно важливим є поєднання САР і кон'юнктивіту. Незважаючи на те, що при САР увагу, зазвичай, ак-

центують на назальних симптомах, більше 80% пацієнтів, як показує практика, страждають від симптомів з боку очей. За даними європейських і північноамериканських дослідників, більше 70% пацієнтів з САР страждають одночасно від очних симптомів і назальних, причому їх ступінь вираженості більшість хворих оцінюють як середньотяжку або тяжку.

Матеріали та методи. Клініко-анамнестичні дослідження проведено у 120 хворих віком від 19 до 45 років. Усіх досліджуваних хворих було розподілено за ступенем тяжкості перебігу захворювання: 58 хворих із середньотяжким перебігом сезонного алергічного риніту та кон'юнктивітом (САРК), який викликано пилом амброзії та 62 хворих із тяжким перебігом САРК, який викликано пилом амброзії. З них 43 (35,8%) жінок, 77 (64,1%) чоловіків, віком від 19 до 25 років – 76 (63,3%), від 25 до 45 років – 44 (36,6%) хворих. Групу контролю склали 30 здорових осіб.

Результати досліджень. Проведена диференціація анамнезу інфекційних захворювань досліджених пацієнтів. У досліджених хворих на САРК із середньотяжким перебігом, гостре респіраторне захворювання (ГРЗ) спостерігалось у 54 (26,9%) хворих, вітряна віспа – у 16 (8,0%), епідемічний паротит – у 12 (6,0%), кір – у 11 (5,5%), вірусний гепатит – у 4 (1,9%) хворих, гострий бронхіт – у 36 (17,9%), пневмонія – у 17 (8,5%), скарлатина – у 6 (2,9%), кишкова інфекція – у 7 (3,5%), ангіна – у 25 (12,4%), отит – у 13 (6,5%) хворих. У хворих з тяжким перебігом САРК, ГРЗ спостерігалось у 59 (23,3%) хворих, вітряна віспа – у 24 (9,5%), епідемічний паротит – у 18 (7,1%), кір – у 16 (6,3%), вірусний гепатит – у 7 (2,8%), гострий бронхіт – у 43 (17%), пневмонія – у 19 (7,5%), скарлатина – у 8 (3,2%), кишкова інфекція – у 9 (3,6%), ангіна – у 32 (12,6%), отит – у 18 (7,1%) хворих.

Аналізуючи структури інфекційних захворювань в анамнезі у досліджуваних хворих на САРК, потрібно підкреслити, що у їх структурі переважає інфекційний процес у верхніх дихальних шляхах та у бронхо-легеневій системі, що призводить до виснаження неспецифічних та специфічних факторів імунітету, формування вторинного імунодефіцитного стану у даних системах.

Обговорення досліджень. При вивченні біохімічних показників крові у хворих на САРК у період загострення встановлено, що найбільші зміни спостерігаються з боку ендогенного холестерину та фосфоліпідів, що може вказувати на неспроможність макрофагальної ланки імунітету. У той же час -ліпопротеїди та НЕЖК були збільшені тільки у групі хворих з тяжким перебігом САРК. Збільшення фосфоліпідів у сироватці крові групи хворих з тяжким перебігом САРК може вказувати на реалізацію пізньої фази алергічного запалення на клітинно-тканинні структури слизової носу.

Висновки. Проведені дослідження анамнестичних даних, структури супутньої патології, лабораторних показників алергологічних досліджень показало, що САРК формується на тлі прогресуючої сенсибілізації та алергізації організму, на якому реалізується прояв алергічних реакцій, що формують тяжкість перебігу САРК, і на силу імунної відповіді на різноманітні

екзоалергени, що визначають типи імунопатологічних реакцій організму у даного контингенту хворих.

Ключові слова: сезонний алергічний ринокон'юнктивіт, пилок амброзії.

SUMMARY

CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH SEASONAL ALLERGIC RHINOCONJUNCTIVITIS (SARK). ANAMNESTIC DATA AND THE STRUCTURE OF COMORBIDITY

Kuznetsov O.G.

National Medical Academy of Post-Graduate Education (NMAPE)
named after P.Shupik

Introduction. Seasonal allergic rhinitis is AZ of mucous membranes (primarily the conjunctiva of the eye and nasal mucosa), due to hypersensitivity to aerosol allergens of plant pollen and fungi spores, the concentration of which in the air periodically becomes prienosnog. The leading clinical manifestation of SAR is considered as allergic conjunctivitis. According to statistics, about 70-90% of patients with SAR develops Pulawy conjunctivitis, characterized by itching of eyes, eyelids, their redness, photophobia, lacrimation. Clinically important is the combination of SAR and conjunctivitis. Although the SAR attention usually emphasize on nasal symptoms, more than 80% of patients, as practice shows, suffer from symptoms from the eyes. According to the European and North American researchers, more than 70% of patients with SAR suffer from eye and nasal symptoms, and their severity the majority of patients assessed as moderate or severe.

Materials and methods. Clinical and anamnestic study was done in 120 patients aged from 19 to 45 years. All the studied patients were divided according to the degree of severity of the disease: 58 patients with moderate course of seasonal allergic rhinitis and conjunctivitis (EYE), which caused Pilca ambrosia and 62 patients with severe SARK, which pilca caused by ragweed. Of these, 43 (35,8%) women, 77 (64.1%) of men aged 19 to 25 years – 76 (63.3 per cent), from 25 to 45 years – 44 (36.6%) patients. The control group consisted of 30 healthy people.

Research results. The differentiation of the history of infectious diseases patients. In the studied patients SARK with moderate current, acute respiratory illness (ARI) was observed in 54 (26,9%) patients, varicella – 16 (8,0%), mumps – 12 (6,0%), measles in 11 (5,5%), viral hepatitis in 4 (1,9%) patients, acute bronchitis 36 (17,9%), pneumonia – 17 (8,5%), the scarlet fever in 6 (2,9%) and intestinal infection in 7 (3,5%), sore throat – 25 (12,4%), otitis in 13 (6,5%) patients. In patients with severe SARK, ARI was observed in 59 (23,3%) patients, varicella – 24 (9,5%), mumps – in 18 (7.1 percent), measles – in 16 (6.3 percent), viral hepatitis in 7 (2.8%) and acute bronchitis – in 43 (17%), pneumonia in 19 (7,5%), scarlet fever in 8 (3,2%), intestinal infection in 9 (3,6%), angina 32 (12,6%), otitis media – in 18 (7.1 per cent) patients.

Analyzing the structure of infectious diseases in the anamnesis in the studied patients SARK need to emphasize that their structure is dominated infection in the upper respiratory tract and broncho-pulmonary system that leads to depletion of nonspecific and specific immunity factors, formation of secondary immunodeficiency in these systems.

Discussion of research. In the study of biochemical parameters of blood in patients with SARK in the period of aggravation established that the greatest changes are observed from endogenous cholesterol and phospholipids, which may indicate the failure of the macrophage link of immunity. At the same time, -lipoproteins and NIK was increased only in the group of patients with severe SARK. The increase of phospholipids in serum of patients with severe SARK can point to the implementation of late phase allergic inflammation in cellular tissue structure of the nasal mucosa.

Conclusions. Conducted research of history data, the structure of comorbidity, laboratory parameters allergological studies have shown that SARK is formed on the background of progressive sensitization and allergization of the organism, which is implemented in the manifestation of allergic reactions, forming the severity of SARK, and on the strength of the immune response to a variety of ecoalign that define the types of immunopathological reactions in this cohort of patients.

Key words: seasonal allergic rhinoconjunctivitis, pollen ragweed.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА:

• **Кузнєцов Олексій Геннадійович**

асистент кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти (НМАПО) імені П.Л. Шупика.

Адреса: 04112, м.Київ,
вул. Дорогожицька, 9.

мобільний телефон: +380509952057

e-mail: kuznetsova_larisa@ukr.net

• **Кузнєцов Алексей Геннадьевич**

асистент кафедры клинической, лабораторной иммунологии и аллергологии Национальной медицинской академии последипломного образования (НМАПО) имени П.Л. Шупика

Адрес: 04112, г.Киев,
ул. Дорогожицкая, 9.

мобильный телефон: +380509952057

e-mail: kuznetsova_larisa@ukr.net

• **Kuznetsov Alexey**

assistant, Department of clinical laboratory of immunology and Allergology, National medical Academy of postgraduate education (NMAPE) named after P. Shupik.

Address: 04112, Kyiv,
st. Dorogzhitskaya, 9.

mobile phone: +380509952057

e-mail: kuznetsova_larisa@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 27.05.2020 р.

АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ

Редакція журналу «Імунологія та алергологія» закликає авторів до активної творчої співпраці.

Ми просимо уважно вивчити всі наведені нижче типові положення. Ретельне дотримання цих вимог значно скоротить правку авторського тексту у всіх його елементах, полегшить Вашу і нашу роботу, прискорить публікацію Ваших матеріалів. Наші вимоги поступово будуть наближатись до міжнародних відповідних рекомендацій.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Всі статті повинні бути оригінальними, а рукописи узгоджені з усіма авторами. Попередня публікація наданих матеріалів в будь-якому виданні, як в цілому, так і частково, за виключенням оформлення у вигляді тез, не допускається. Також ці матеріали не повинні подаватися до друку в інші видання і передруковуватися в цілому або частково без письмового дозволу видавництва.

Якщо в роботі використовуються ілюстрації, таблиці та інші матеріали, що були опубліковані іншими дослідниками, автору необхідно подати дозвіл на їх публікацію.

Матеріал, надісланий для публікації, повинен мати експертне заключення. Мова статей українська, російська або англійська.

Рукописи будуть прийматись на розгляд рецензентами та видавниками. Рукописи, які мають потребу в значних змінах в процесі рецензування, будуть повернені авторам для доробки.

Редакція не несе відповідальності за допущені авторами помилки.

Якщо редакція вважає, що в статті є прихована реклама, вона залишає за собою право скласти з автором угоду на додаткову оплату. Обсяг статей необмежений, але редакція залишає за собою право на скорочення матеріалу при обсязі більше 20 сторінок машинопису чи його вміщення в кількох номерах журналу.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

Стаття до редакції подається у 2-х примірниках з 2 наборами ілюстрацій, з текстом, надрукованим через 2 інтервали на одному боці стандартного листа А4 (210х 197 мм) з полями по 3 см з усіх боків. Нумерувати всі сторінки рукопису необхідно послідовно, починаючи з титульного аркуша.

1. Титульний аркуш.

Назва (великими літерами), повне ім'я (імена) авторів, назва установи, де виконана робота, та її точна поштова адреса, повна адреса автора, якому буде надсилатись кореспонденція. При бажанні — телефон/факс для спілкування.

Якщо Ви зможете матеріал на комп'ютері, просимо робити це на CD-диску, вказавши назву та версію текстового редактора (бажано Win Word 2000 та XP). Ілюстрації, розроблені на комп'ютері, приймаються в TIFF форматі з роздільною здатністю 300 dpi. Додатково до CD-диску повинен обов'язково надсилатись друкований матеріал статті.

2. УДК

3. **Резюме.** Кожна стаття повинна мати резюме, яке складається з наступних розділів - Мета роботи, Матеріали і методи, Результати, Висновки. Рукописи супроводжуються резюме українською, російською та англійською мовами. Всі резюме повинні мати переклад назви статті, прізвища автора (авторів), назви установи.

4. **Текст статті,** враховуючи міжнародні вимоги оформлення (для коротких повідомлень (менше 5 стор.) - необов'язково) повинен мати наступну схему викладення:

Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Література.

Вступ — повинен відображати суть дослідження і пояснювати його актуальність.

Матеріали та методи — містять суттєві деталі, в тому числі опис проведеного експериментального дослідження, методи статистичного обчислювання результатів.

Результати — в них треба відобразити основні дані, що були отримані в результаті проведеного дослідження. Результати не повинні містити обговорення отриманих даних.

Обговорення та висновки — не повинно бути повторення розділу Результати, а представити отримані дані в більш широкому вигляді з використанням робіт інших авторів на цю тему.

Література — всі джерела літератури, на які робляться посилання в тексті статті (повинні бути надруковані в [] дужках), мають бути надані в списку літератури послідовно, як вони зустрічаються в тексті статті. Приклади оформлення списку літератури наводимо нижче згідно вимог ВАКу (див. Бюлетень ВАК України. 2008. №3).

Список літератури:

Приклади оформлення

Монографії (один, два або три автори)

Суберляк О. В. Технологія переробки композиційних матеріалів: підруч. [для студ. вищ. навч. закл.] / О. В. Суберляк, П. І. Баштан. - Львів: Растр-7, 2007. - 375 с.

П'ять та більше авторів

Формування здорового способу життя: навч.-метод. посіб. для працівників соц. служб/ [Т. В. Бондар, О. Г. Карпенко, та ін.]. - К.: Укр. ін-т соц. дослідж., 2005. - 115 с. - (Серія «Здоровий спосіб життя»: у 14 кн., кн. 13).

Колективний автор

Проблеми типологічної та квантитативної лексикології: [зб. наук. праць / наук. ред. Каліущенко В. та ін.]. - Чернівці: Рута, 2007. - 310 с.

Багатотомні видання

Кучерявенко Н.П. Курс налогового права: Особенная часть: в 6 т./Н.П. Кучерявенко.-Х.: Право, 2002. - Т.4: Косвенные налоги.- 2007.-534с.

Перекладні видання

Акофф Р. Л. Идеализированное проектирование/ Акофф Р.Л.,; пер. с англ. Ф.П.Тарасенко. — Днепропетровск: Баланс Бизнес Букс, 2007. — XLIII, 265 с.

Стандарти

Якість води.Словник термінів:ДСТУ ISO 6107-1:2004-ДСТУ ISO 6107-9:2004.- [Чинний від 2005-04-01].-К.:Держспоживстанд арт України,2006.-IV,231 с.- (Національний стандарт України).

Збірки наукових праць

Социологическое исследование малых групп населения / В. И. Иванов [и др.] ; М-во образования Рос. Федерации, Финансовая академия. – М., 2002. – 110 с. – Деп. в ВИНТИ 13.06.02, № 145432.

Складові частини книги

Козіна Ж. Л. Теоретичні основи практичного застосування системного аналізу в наукових дослідженнях в області спортивних ігор / Ж. Л. Козіна // Теорія та методика фізичного виховання. — 2007. — № 6. — С. 15-18.

Тези доповідей

Оцінка ресурсу елементів конструкцій: праці конф., 6-9 черв. 2000 р., Київ. Т. 2 /відп. Ред. В. Т. Трошенко. — К.: НАН України, Ін-т пробл. міцності, 2000. — С. 559-956, XIII, [2] с. — (Ресурс 2000).

Таблиці та ілюстрації

Нумеруються арабськими цифрами і виконуються на окремих листках. Таблиці повинні мати заголовок, а графіки, малюнки і мікрофотокартки — підписи, виконані на окремому аркуші (аркушах), які чітко відображують суть ілюстрації. Якщо в тексті приведено збільшення об'єкта, то його необхідно приводити в дужках, наприклад (x500), а в кінці надпису — «...волокна x 46000». Для передрукування мікрофотокарток необхідні оригінальні, хорошої якості фотокартки; негативи та фотокопії не використовуються. На звороті кожної ілюстрації вказіть її номер, імена авторів і верхній та нижній краї. Графіки та малюнки повинні бути надані у вигляді чітких глянцевого фотокарток або виконані на окремому аркуші. Розміщення в тексті відповідної ілюстрації вказіть на лівому полі в квадраті з номером ілюстрації.

Хімічні формули

Всі хімічні формули та схеми з них вписують від руки пастою чорного кольору. Хімічні формули публікації (крім найпростіших, типу HCl, H2SO4) і схеми реакцій нумерують арабськими цифрами в дужках і подають після кінця абзацу з посиланням на них. Порядкові номери одиничних формул представляють під формулою, номери схем — на правому краї формату.

Статті, оформлення яких не відповідає вказаним правилам, повертаються авторам без розгляду редакції.

СТАТТІ НАДСИЛАТИ ЗА АДРЕСОЮ:

04053, м. Київ, вул. В.Винниченка, 9А,
Інститут урології АМН України проф. Драніку Г. М.
info@immunology.org.ua



БІОВЕН



З НАРОДЖЕННЯ

ПОРЯТУНОК ЖИТТЯ ПАЦІЄНТІВ

Імуноглобулін людини нормальний для внутрішньовенного введення 10% IV покоління

Витяг з інструкції для медичного застосування препарату **БІОВЕН®** Р. н. UA/14526/01/02 Наказ МОЗ України № 610 від 21.06.2016¹.

Лікарська форма. Розчин для інфузій. **Діюча речовина.** Human normal immunoglobulin for intravenous administration. 1 мл препарату містить імунологічно активної білкової фракції імуноглобуліну G — 0,1 г. **Фармакотерапевтична група.** Імуноглобулін людини нормальний для внутрішньовенного введення. **Форма випуску.** По 10, 25, 50 або 100 мл у пляшці або флаконі. **Показання.** Препарат застосовувати для замісної імунотерапії у процесі лікування первинних і вторинних імунодефіцитних станів і пов'язаних із ними захворювань, а також для лікування та профілактики захворювань, спричинених бактеріальною та вірусною інфекціями. Препарат застосовувати дорослим пацієнтам. Застосовувати при лікуванні: синдромів первинного імунодефіциту, вторинного синдрому дефіциту антитіл, аутоімунних захворювань, трансплантації кісткового мозку. **Протипоказання.** Гіперчутливість до будь-якого з компонентів препарату. **Побічні реакції.** При використанні можливі побічні ефекти. **Має застереження до застосування. Умови зберігання.** Зберігати в оригінальній упаковці для захисту від дії світла при температурі від 2 до 8 °С. Не заморозувати. За умов зберігання при температурі не вище 25 °С термін придатності — 6 місяців. Після закінчення цього терміну препарат не можна поміщати в холодильник, його необхідно утилізувати. **Термін придатності.** 2 роки. Термін придатності за умов зберігання при температурі не вище 25 °С — 6 місяців. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Виробник.** ТОВ «БІОФАРМА ПЛАЗМА», Україна. Адреса. Юридична адреса: Україна, 09100, Київська обл., м. Біла Церква, вул. Київська, 37.

Витяг з інструкції для медичного застосування препарату **БІОВЕН МОНО®** Р. н. UA/14526/01/01 Наказ МОЗ України № 973 від 15.09.2016².

Лікарська форма. Розчин для інфузій. **Діюча речовина.** Human normal immunoglobulin for intravenous administration. 1 мл препарату містить імунологічно активної білкової фракції імуноглобуліну G — 0,05. **Фармакотерапевтична група.** Імуноглобулін людини нормальний для внутрішньовенного введення. **Форма випуску.** По 25, 50 або 100 мл у пляшці. **Показання.** Замісна терапія: синдроми первинного імунодефіциту, синдроми вторинного імунодефіциту; імуномодуюча терапія. **Протипоказання.** Гіперчутливість до будь-якого з компонентів препарату. **Побічні реакції.** При використанні можливі побічні ефекти. **Має застереження до застосування. Умови зберігання.** Зберігати в оригінальній упаковці за температури від 2 до 8 °С. Зберігати в недоступному для дітей місці. **Термін придатності.** 2 роки. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Виробник.** ТОВ «БІОФАРМА ПЛАЗМА», Україна. Адреса. Юридична адреса: Україна, 09100, Київська обл., м. Біла Церква, вул. Київська, 37. Перед використанням ознайомитися з повною інструкцією.

Про випадок побічної реакції або відсутності ефективності в результаті прийому лікарських засобів, виробництва компанії БІОФАРМА, ви можете повідомити:

1. Онлайн форма: <http://www.biopharma.ua/karta-soobshchenie-dlya-meditsinskikh-spetsialistov.html>
2. По телефону цілодобової "гарячої лінії" фармаконагляду: +38 (044) 390-36-84

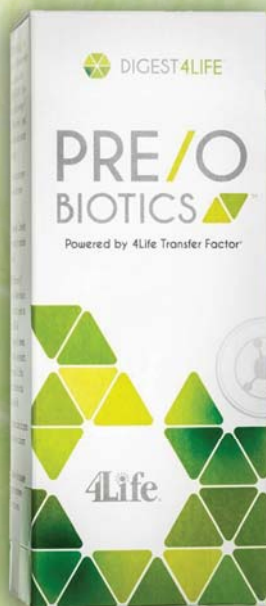
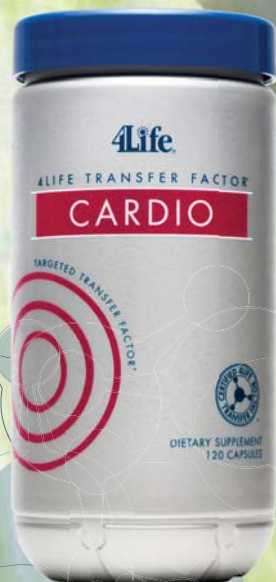
Інформація призначена для професійної діяльності медичних і фармацевтичних працівників для розповсюдження на спеціалізованих семінарах, конференціях, симпозиумах з медичної тематики або для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ і лікарів.

Повна інформація про лікарські засоби Біовен/Біовен моно міститься в інструкціях для медичного застосування.

За додатковою інформацією звертайтеся за адресою:
03680, м. Київ, вул. Миколи Амосова, 12, БЦ «Горизонт Парк», буд. 2, поверх 4
Тел.: +38 (044) 277-36-10, факс: +38 (044) 275-80-24
www.biopharma.ua

 biopharma

Трансфер Фактор – УЛУЧШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ



Центр 4Life Трансфер Фактор UA:
Київ, ул. Терещенківська, 13, оф.22,
Тел.: 097-, 095-, -063, - 113-14-15.
www.transferfactor.in.ua