

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Калиновская Ольга Владимировна

старший научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Якунин Семен Викторович

лаборант-исследователь

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

студент

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

**НЕИНВАЗИВНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИИ
С ОПРЕДЕЛЕНИЕМ УРОВНЯ СООТВЕТСТВУЮЩИХ IGE
МЕТОДОМ ИФА**

Аннотация: работы. Проведено исследование по диагностике аллергической реакции и выявлению уровня соответствующих IgE при неинвазивном ме-

тоде забора материала. Аллергодиагностику проводили методом иммуноферментного анализа.

Ключевые слова: *аллергия, IgE, иммуноферментный анализ, копрофильтрат, дети.*

Аллергия – иммунопатологический процесс, выраженный сверхчувствительностью иммунной системы организма, механизм развития которой носит защитный характер.

Активирующим иммунорецептором аллергической реакции является высокоаффинный рецептор для IgE, специфичный для каждого вида аллергенов [3]. Иммуноглобулины E – антитела, которые вырабатываются плазматическими клетками миндалин, селезенки, желудка, слизистых оболочек дыхательных путей и кишечника. Аллерген, состоящий из носителя и гаптена, поглощается макрофагом, затем носитель активирует T-клетки, а гаптен подготавливает B-клетки к синтезу IgE. В случае если гаптенспецифические B-клетки взаимодействуют с T-хелперами, они дифференцируются в IgE-стимулирующие плазматические клетки [1]. Иммуноглобулины E связываются с рецепторами на поверхности тучных клеток, вызывая их дегрануляцию и высвобождение преобразованных медиаторов (гистамина, гепарина и др.), это и приводит к развитию аллергической реакции [2]. Определение аллерген-специфических IgE особенно актуально в первые месяцы жизни ребенка при первых признаках проявления аллергических реакций.

На сегодняшний день методом определения аллерген-специфических IgE является метод иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови. Однако, для проведения анализа необходимо проводить забор крови из вены, что сопряжено с определенными сложностями, к примеру, у детей до года из-за возрастных особенностей развития сосудистой системы кровь приходится брать из пятки, к тому же венепункция является инвазивной процедурой и сопряжен с высоким риском инфицирования, в связи с этим остро стоит вопрос о неинвазивном методе взятия биологического материала для анализа.

Специфический IgE обуславливает I тип гиперчувствительности немедленного типа – наиболее распространённый тип аллергических реакций, находится в нескольких видах биологических секретов, жидкостей человеческого организма и в крови где его уровень составляет около 1%, тогда как в кишечнике – 90% и основными продуцентами IgE являются энтероциты, которые входят в состав слизистой оболочки стенки кишечника. Учитывая, что большая доля IgE находится в кишечнике логично предположить, что определять содержание IgE более информативно в отделяемом кишечника. В этом случае биоматериал будет собираться неинвазивно. Тем не менее в настоящее время все наборы для ИФА рассчитаны для определения специфического IgE только в сыворотке крови.

В связи с этим *цель* нашей работы: отработка и оптимизация протокола неинвазивного метода диагностики аллергии в различных биологических образцах (копрофильтрат и сыворотка крови) с определением уровня специфических IgE методом ИФА в различных возрастных группах.

В лаборатории биохимии и токсикологии НИЦ ФППББ разработан протокол определения уровня IgE в копрофильтрате. Методика отработывалась на клиническом материале, предоставленном медицинским центром «Аллегрис» г. Ульяновска. В сыворотке крови уровень IgE определяли стандартным набором согласно инструкции производителя («Иммунотекс», Россия), на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе ImmunoChem-2000 (НТИ, США) Результат выражали в единицах калибровочных образцов (кЕ/л).

Для решения поставленной цели были сформированы три возрастные группы пациентов (табл. 1), направленные на обследование с целью диагностики аллергии.

Таблица 1

Возрастные группы пациентов и количество исследований

№ группы	Возраст	Количество пациентов
1	До 5 лет	9

2	От 5 до 18 лет	3
3	Старше 18 лет	7

Материал для исследований доставлялся в лабораторию в стандартном контейнере в течение четырех часов после сбора. Сыворотка крови анализировалась сразу после поступления. Для анализа копрофильтрата была адаптирована инструкция к коммерческому набору для определения уровня специфических IgE в сыворотке крови производства «Иммунотекс», Россия.

В биологическом материале исследовали реакцию на три группы аллергенов (табл. 2).

Таблица 2

Исследуемые группы аллергенов

№	Группы аллергенов	Примеры аллергенов данной группы
1	Пищевые аллергены	Молоко коровье цельное Молоко коровье кипяченое Молоко козье Альфа-лактальбумин Бета-лактоглобулин Треска Казеин Глютен Рисовая крупа Гречневая крупа
2	Клещи домашней пыли	<i>Dermatophagoides farinae</i> <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
3	Грибковые аллергены	<i>Alternaria tenuis</i> <i>Penicillium tardum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Mucor pusillus</i>

В результате исследований выявлено, что концентрации IgE в сыворотке и копрофильтрате оказались довольно близки, но прямой корреляции не выявлено. Так при анализе пищевых аллергенов обнаружено, что копрофильтрат хорошо отражает более выраженную аллергическую реакцию, а умеренную и слабую не всегда, при этом уровень IgE ниже, чем в сыворотке крови.

В первой группе дети до 5 лет *аллергическая реакция на пищевые аллергены* более выражена, чем в других возрастных группах. При этом некоторые аллергены хорошо «видны» как в сыворотке, так и в копрофильtrate – глютен, бета-лактоглобулин и альфа-лактальбумин, разница между их показателями в сыворотке и копрофильtrate составляет не более 5%, некоторые хуже – коровье молоко и крупы, в этом случае разница между их показателями в крови и копрофильtrate составляет более 15% (рис. 1, 2).

В 1-й группе аллергическая реакция в *сыворотке крови* наиболее выражена на кипяченое коровье молоко, козье молоко, альфа-лактальбумин, бета-лактоглобулин, казеин, глютен, рисовую и гречневую крупы.

Во 2-й возрастной группе аллергическая реакция в сыворотке крови выражена умеренно на все аллергены. В 3-й возрастной группе на большинство аллергенов реакция в сыворотке крови выражена слабо, за исключением реакции на цельное коровье молоко и треску, реакция на которые является наиболее сильной среди всех возрастных групп.

В *копрофильtrate*, в отличие от сыворотки крови, на цельное коровье молоко аллергическая реакция наиболее выражена у 1-й возрастной группе, в то время как у 3-й возрастной группы показатель является наименьшим.

В целом в сыворотке крови на пищевые аллергены наблюдается тенденция к уменьшению уровня аллергической реакции с возрастом. Также следует отметить, что средний уровень показателей аллергической реакции на 10% в копрофильtrate ниже, чем в сыворотке крови.

Определение *клещевых аллергенов* в *копрофильtrate* затруднено, уровень содержания соответствующих специфических IgE низкий, в среднем, в копрофильtrate показатель IgE на 20% ниже, чем в сыворотке крови (рис. 3, 4).

Так в 1-й возрастной группе аллергическая реакция в *сыворотке крови* наиболее выражена на *Dermatophagoides farinae* и *Dermatophagoides pteronyssinus*. Во 2-й возрастной группе показатели аллергической реакции являются умеренными, а в 3-й наименьшие среди всех возрастных групп.

В копрофильtrate, также, как и в сыворотке крови, у 1-й возрастной группы показатели аллергической реакции наибольшие, у 2-й умеренные, а в 3-й – самые низкие. Тем не менее в целом средний уровень аллергической реакции в копрофильtrate на 20% ниже, чем в сыворотке крови.

Во всех возрастных группах как в копрофильtrate так и в сыворотке крови отмечается снижения уровня аллергической реакции с возрастом.

Анализ содержания *грибковых аллергенов* выявил обратную картину – часты случаи, когда в копрофильtrate уровень специфических антител на 20% выше, чем в сыворотке крови. Показатели в двух разных биоматериалах при анализе грибковых аллергенов близки, при этом зависимости от возраста не наблюдается.

В 1-й возрастной группе аллергическая реакция в сыворотке крови наиболее выражена на *Penicillium tardum*, *Penicillium expansum* и *Mucor pusillus*. Во 2-й возрастной группе реакция на большинство аллергенов умеренная, за исключением реакции на *Alternaria tenuis*, которая является наиболее сильной среди всех возрастных групп. В 3-й возрастной группе аллергическая реакция выражена слабо на все аллергены. Наблюдается динамика снижения уровня аллергической реакции с возрастом.

В копрофильtrate, в отличие от сыворотки крови, в 1-й возрастной группе аллергическая реакция выражена сильно только на *Penicillium tardum* и *Penicillium expansum*, в остальных случаях она выражена умеренно. Во 2-й возрастной группе аллергическая реакция на *Alternaria tenuis* выражена слабее, нежели у других возрастных групп, однако реакция на *Mucor pusillus* является наиболее выраженной. В 3-й возрастной группе реакция на большинство аллергенов выражена слабо, за исключением реакции на *Alternaria tenuis*, которая является наиболее выраженной среди всех возрастных групп. В отличие от сыворотки крови, в копрофильtrate не наблюдается сильной зависимости снижения уровня аллергической реакции с увеличением возраста. Также следует отме-

тить, что средний уровень аллергической реакции на 20% в копрофильtrate выше, чем в сыворотке крови.

Таким образом, была адаптирована стандартная методика к набору определения метод ИФА уровня специфических IgE в сыворотке крови для его использования при определении IgE в копрофильtrate. При этом, в случае грибковых и пищевых аллергенов, копрофильtrat хорошо отражает аллергическую реакцию, но в случае клещевых аллергенов анализ затруднен, в связи с низким уровнем содержания IgE. Также следует отметить, что в возрастной группе детей до 5 лет анализ копрофильtrата отражает концентрацию специфических IgE с большей точностью, нежели у других возрастных групп.

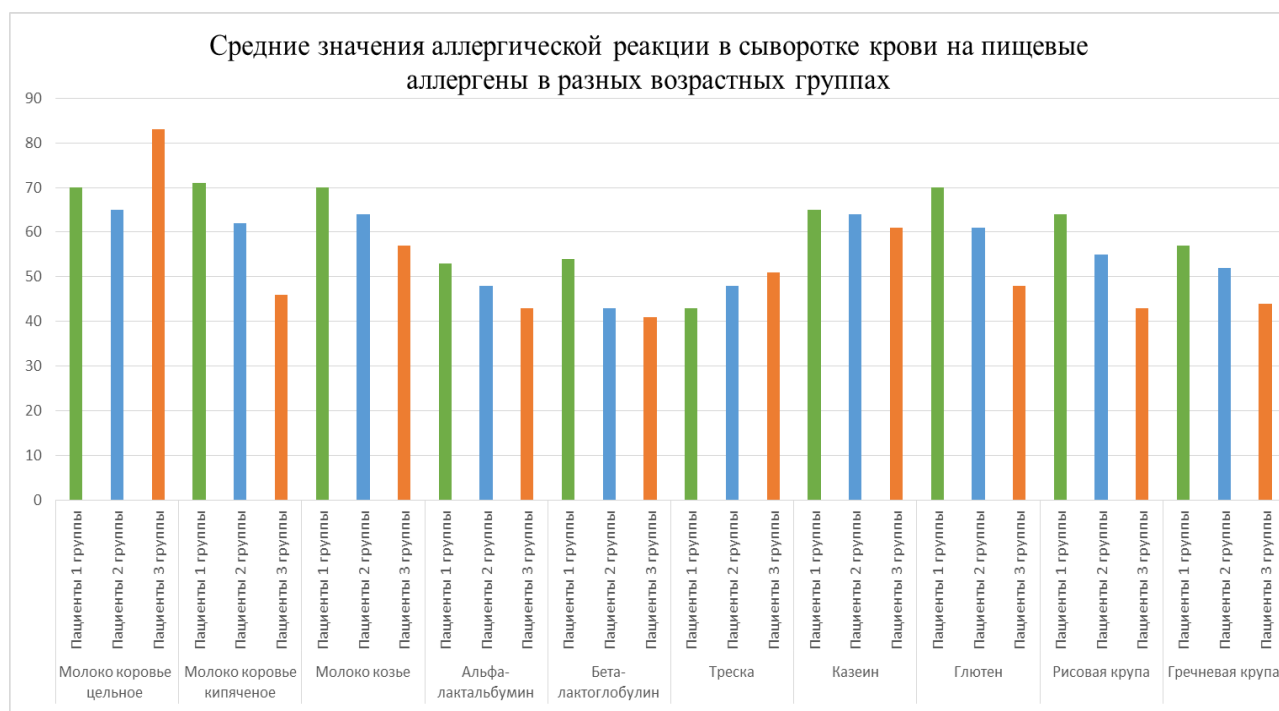


Рис. 1

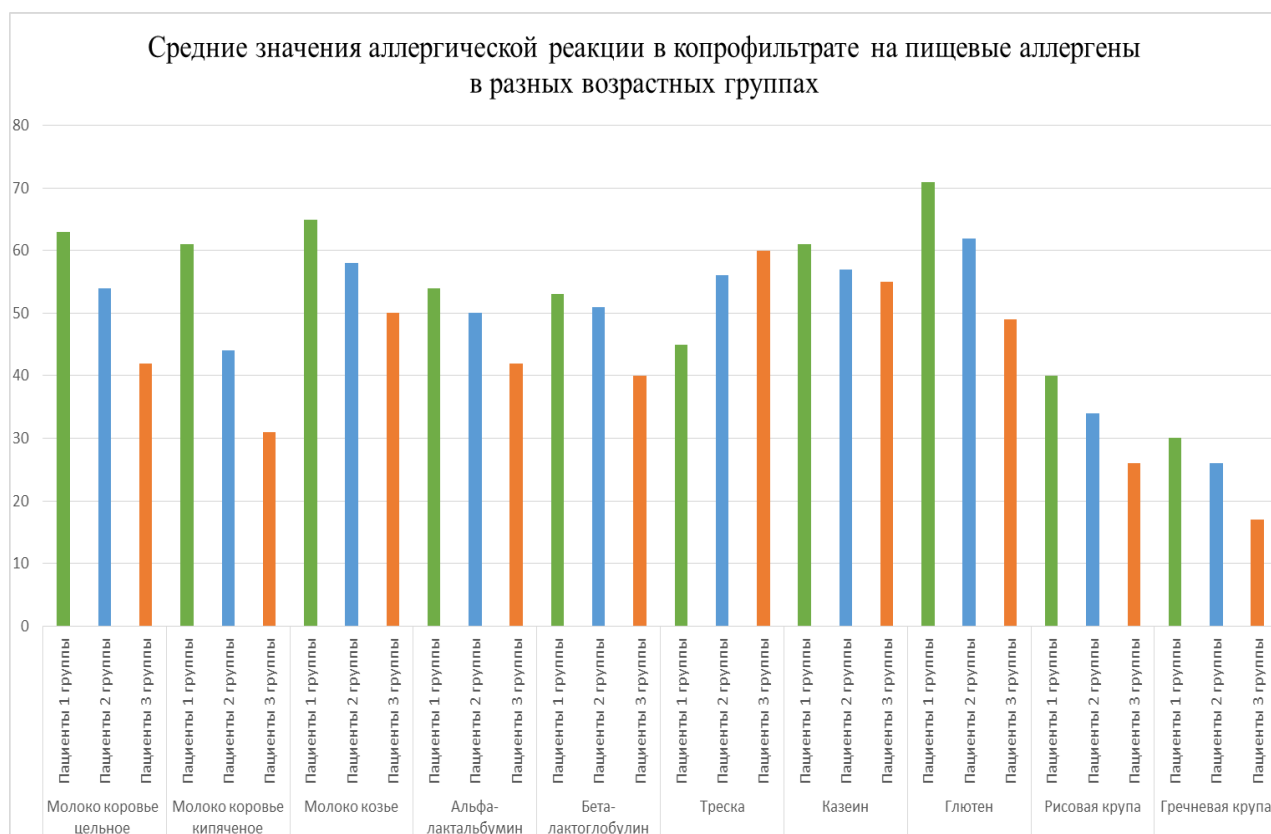


Рис. 2

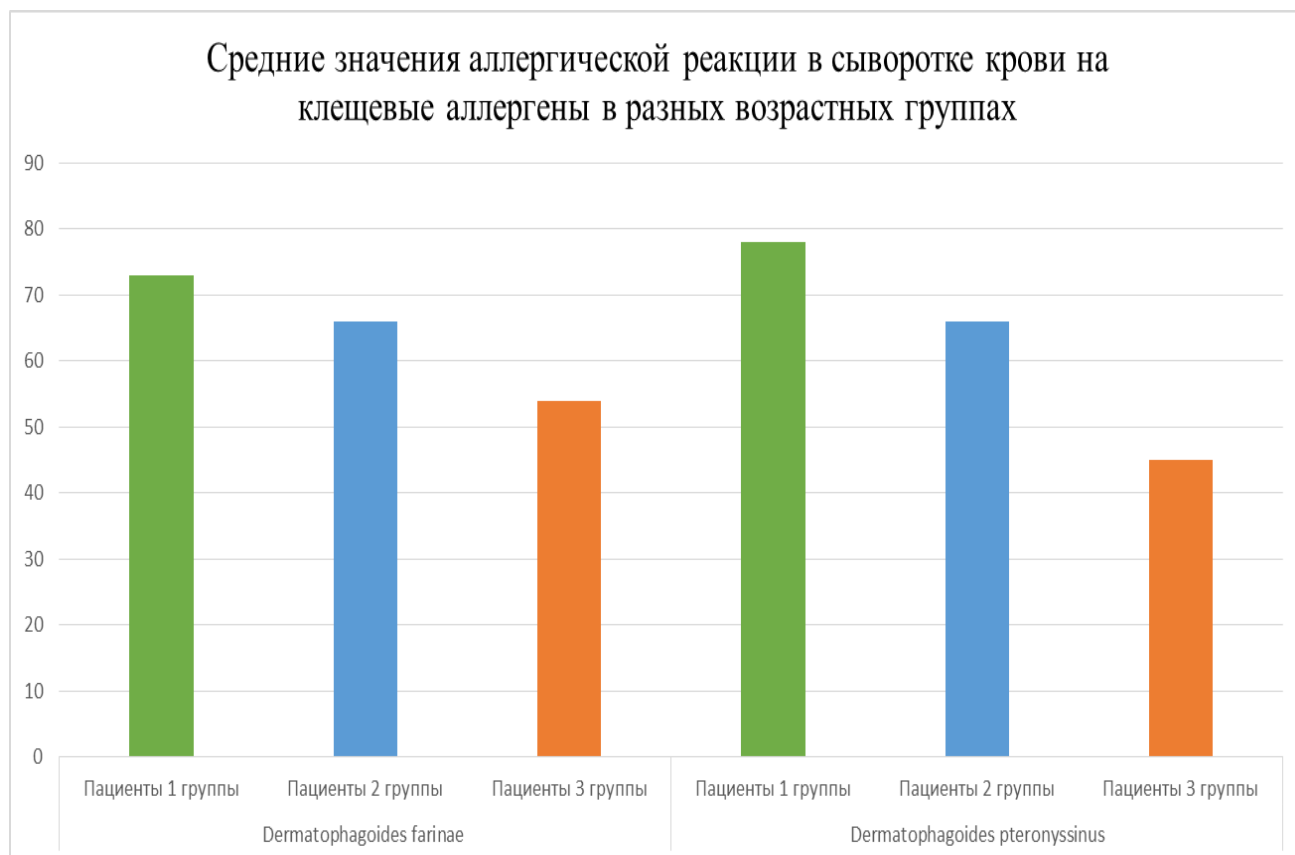


Рис. 3

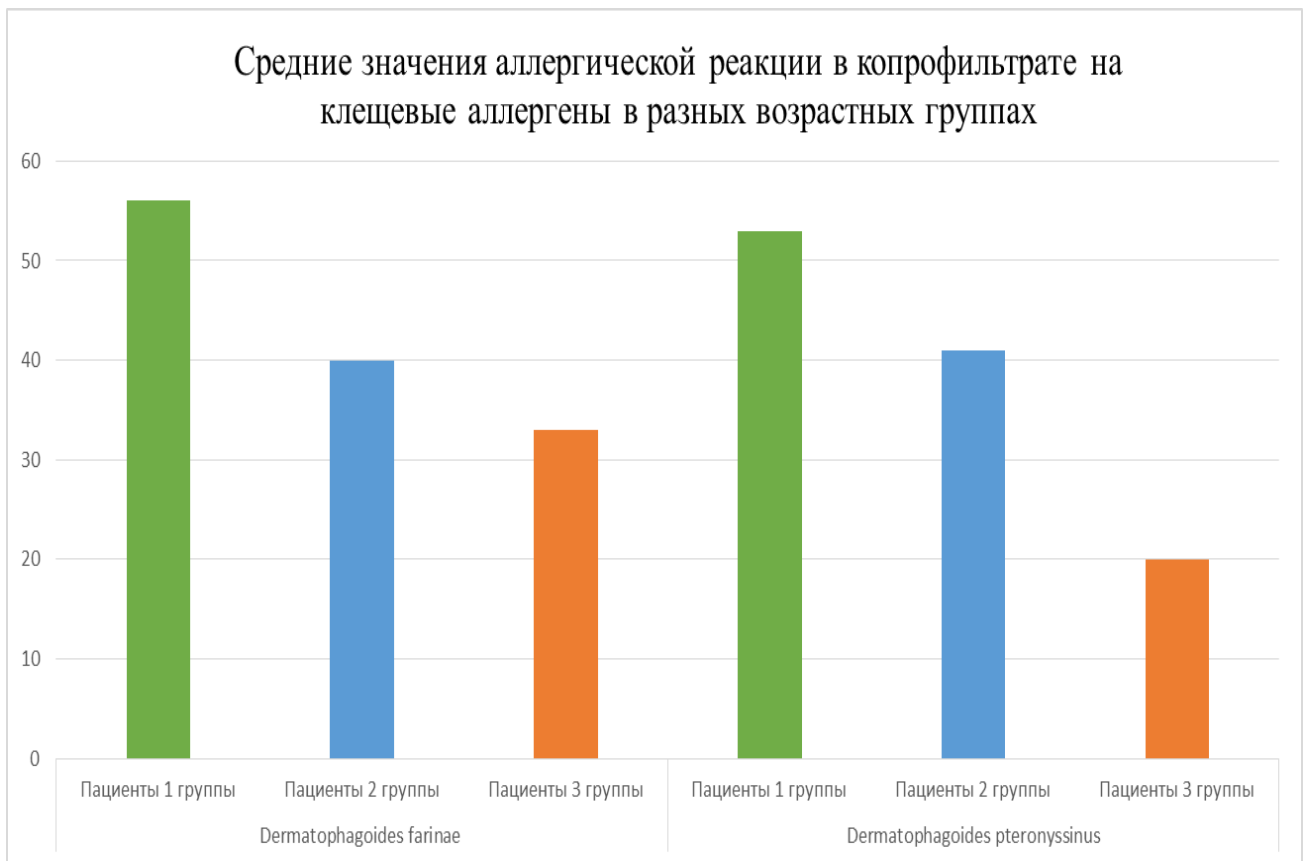


Рис. 4



Рис. 5

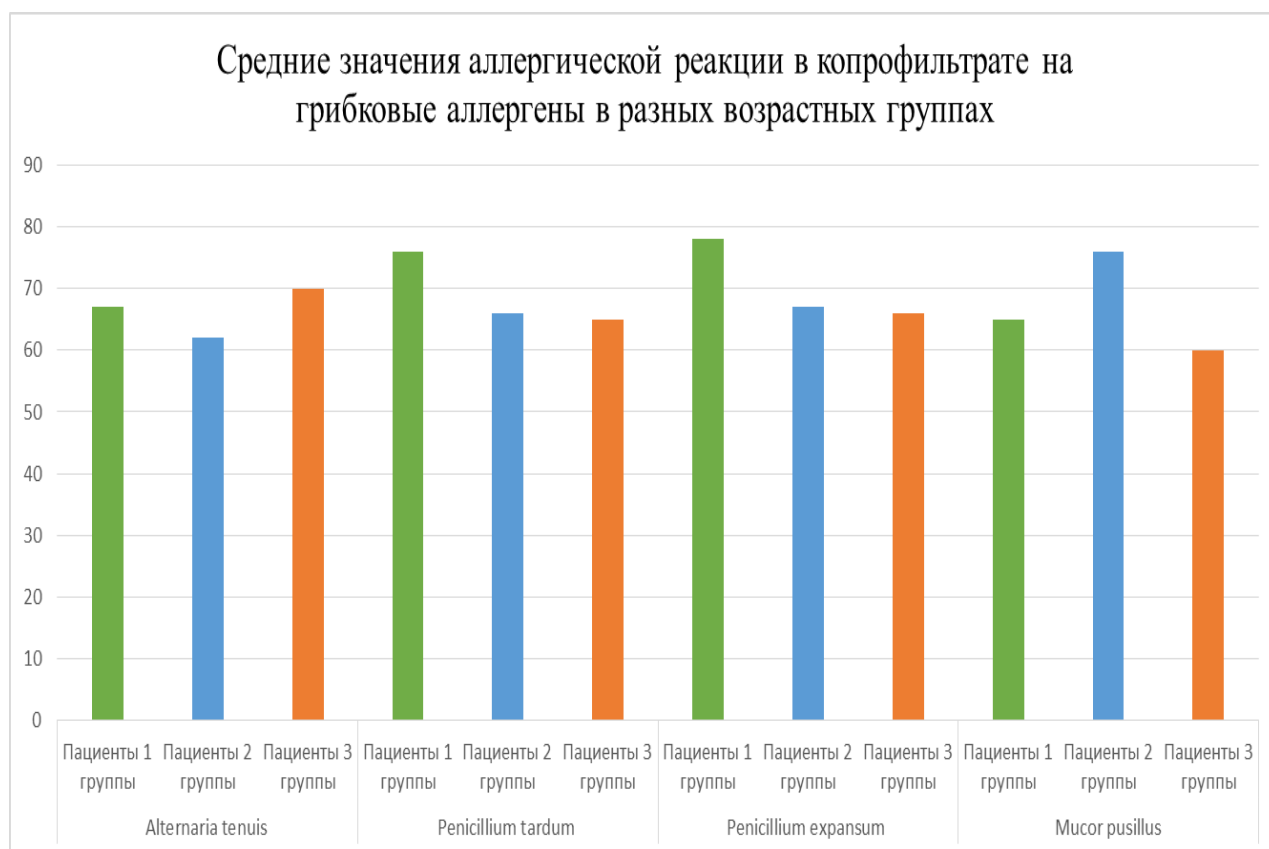


Рис. 6

Список литературы

1. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология. Том 2 (3) / Л. Йегер, С.С. Кирзон, Б.С. Каганов / под ред. Р.В. Петрова. – 1986. – С. 54–58.
2. Ройт А. Основы иммунологии / А. Ройт; под ред. Р.Г. Василова, А.Ф. Киркина. – 1991. – С. 219–222.
3. Хаитов Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович; под ред. В.Н. Ярыгина, В.А. Черешнева. – 2000. – С. 332–336.