

вышены.

Заключение. Для работников данного химического предприятия, имеющих контакты с производственным фактором, с достоверностью 82-90% можно утверждать, что повышенные значения показателей CD16%, CD16abs, IgE, s-IgA-sal являются маркерами повышенного риска ежегодного заболевания ОРВИ. С помощью этих маркеров на данном предприятии было выявлено 90,3% всех ежегодно болеющих ОРВИ лиц. Рассмотренный подход может быть рекомендован для дополнительного анализа результатов иммуноэпидемиологического скрининга работников промышленного объекта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. А.Г. Чучалин. Пульмонология: национальное руководство / Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 960 с.
2. Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО, 1995, 219 с.
3. Т.В. Феофанова, А.И. Мартынов, Т.Г. Федоскова. Использование таблиц сопряженности 2x2 для анализа количественных данных иммуноэкологического исследования. Труды XII Всероссийского совещания по проблемам управления. ВСПУ-2014. Москва, 16-19 июня 2014 г. М.: Изд-во Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, 2014, с.6538-6545.
4. М. Кендалл, А. Стьюарт. Статистические выводы и связи: / Под ред. А.Н. Колмогорова. Пер. с англ. Л.И. Гальчука и А.Т.Терехина. М.: Издательство «Наука», главная редакция физико-математической литературы, 1973, 899 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЛЕРГЕНА ИЗ ЯДА ПЧЕЛЫ МЕДОНОСНОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГОРИТМА ПОШАГОВОЙ ОЦЕНКИ

Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Мартынов А.И., Шабанов Д.В., Миславский О.В., Маковецкая А.К.

ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

THE RESEARCH OF SPECIFIC ACTIVITY OF ALLERGEN FROM HONEY BEE VENOM WITH USE OF ALGORITHM OF A STEP-BY-STEP ESTIMATION

Fedoskova T.G., Fedoseeva V.N., Martynov A.I., Shabanov D.V., Mislavsky O.V., Makovetskaya A.K.

NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow

Во врачебной практике чаще встречаются аллергические реакции на ужаление пчелой, осой, шершнем – насекомыми, относящимися к отряду перепончатокрылых (Hymenoptera). Аллергические реакции на ужаление характеризуются тяжестью симптомов, бурным течением и возможностью летального исхода [1].

Распространённость инсектной аллергии к перепончатокрылым насекомым в России составляет 0,4–8% [2]. Выраженные местные реакции на ужаления перепончатокрылых насекомых встречаются в 2,4–26,4% общей популяции населения. Системные реакции выявлены у 0,5–3,3%

обследованных жителей в США. Среди взрослого населения Европы сенсibilизацию к жалящим насекомым выявляют в 9,2-28,7% случаев, а пре-валирование системных реакций колеблется от 0,3 до 7,5% [3,4]. В России системные реакции отмечены у 6,4% обследованных пациентов на гиперчувствительность к ужалению перепончатокрылыми насекомыми [5].

Смертность от анафилактических реакций на яд жалящих насекомых составляет 0,03-0,48% случая на миллион населения ежегодно [6]. К группе риска относятся пчеловоды, так как у 15-43% возникает аллергия к яду пчёл. Атопические

заболевания зарегистрированы у 31-35% больных аллергией к ужалению перепончатокрылым насекомым [1]. Следует обратить внимание, что проведение специфической аллергодиагностики у пациентов с аллергией к ужалению перепончатокрылыми насекомыми с использованием метода кожного тестирования, может привести к обострению аллергического заболевания, вплоть до провокации реакций анафилактического типа. Из этого следует необходимость применения лабораторных тестов позволяющих исключить контакт пациента с инсектным аллергеном. Существующая система клиноко-лабораторной диагностики инсектой аллергии (анализ анамнеза болезни, оценка специфических IgE) не охватывает все механизмы реакций гиперчувствительности к жалящим насекомым. В этом случае постановка тестов с использованием клеток-мишеней аллергических реакций позволит выявить наличие сенсибилизации у пациента к конкретному насекомому и обеспечит прогнозирование развития у пациента анафилактического шока. Разработанный в институте иммунологии алгоритм представляет собой последовательность методических исследований для изучения специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций.

Алгоритм включает следующие методические исследования:

1) Определение специфических IgE-антител в сыворотках крови пациентов к инсектным аллергенам.

2) Определение уровня выделения гистамина при воздействии инсектными аллергенами на клетки-мишени (базофилы). В работе нами было показано необходимость использования контроля на специфическое IgE связывания с высокоаффинным Fc рецептором базофилов.

3) Клеточный аллерген, стимуляционный тест для количественного определения уровня выделения сульфидолеякотриенов из базофилов [7].

4) Базофильный активационный тест для определения процента активированных базофилов на поверхности, которых появляется маркер CD63 [8].

5) Тест «для диагностики in vitro» для обнаружения активированных базофилов. Этот

тест позволяет чётко гейтировать базофилы в образцах цельной крови по фенотипу (CRTH2^{pos}CD203^{cpos}CD3^{neg}) [9].

Использование, указанных в алгоритме методов оценки специфической активности инсектных аллергенов обеспечило проведение исследований в соответствии со спецификой патофизиологических процессов, определяющих аллергореактивность суммарной аллергенной фракции (САФ) из яда пчелы медоносной – препарата отечественной разработки [10]. Провели исследование 175 сывороток больных различными атопическими заболеваниями, имеющими в анамнезе гиперчувствительность на ужаления пчёлами (диагнозы устанавливались на основании данных сбора анамнеза и общепринятых методов аллергологического обследования в клинике ГНЦ-Института Иммунологии ФМБА России). При этом было выявлено 26 пациентов с высокими показателями специфических IgE, сыворотки которых составили основной диагностический банк сывороток. Общий IgE в интервале 400-800 МЕ/мл (3-4 класс ИФА). У 14 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчёлами (3 класс ИФА) уровень гистаминолиберации составил $38,7\% \pm 4,7$ при постановке теста с аллергеном из яда пчелы (АЯП), в тесте использованием специфического контроля – $45,4\% \pm 5,2$ (антитела против IgE-связывающего FcεR1 рецептора базофилов). При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчёлами (4 класс) уровень гистаминолиберации составил $52,6\% \pm 5,4$ при использовании АЯП, при использовании специфического контроля – $58,4\% \pm 4,9$. Отрицательным считали результат, когда уровень гистаминолиберации был менее 10%. Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчёлами (3 класс) уровень сульфидолеякотриенов (sLT) в супернатанте лейкоцитарной взвеси составил $539,8 \text{ пг/мл} \pm 24,7$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $585,4 \text{ пг/мл} \pm 28,2$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчёлами (4 класс) уровень sLT составил $665,6 \text{ пг/мл} \pm 29,5$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $694,8 \text{ пг/мл} \pm 34,7$. У 14 пациентов с гиперчувствитель-

ностью на укусы пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил $42,7\% \pm 5,8$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $47,4\% \pm 4,8$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил $55,6\% \pm 4,7$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $59,4\% \pm 5,1$. Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил $53,7\% \pm 6,1$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля – $69,4\% \pm 5,8$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил $63,7\% \pm 6,5$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля – $75,4\% \pm 5,6$. Показатели активации клеток-мишеней выше $10\% \pm 1,2$ свидетельствовали о позитивном результате при оценке специфической активности САФ полученной из яда пчелы медоносной. За 100% брали общее количество базофилов в пробе (600 клеток) при измерении на проточном цитометре. Разработан алгоритм для пошаговой оценки специфической активности инсектных аллергенов с использованием маркеров активации (CD63, CD203) клеток-мишеней аллергических реакций (базофилов), количественного определения медиаторов аллергических реакций (гистамина, сульфидолекотриенов) и IgE-специфического критерия в системе «in vitro». Использование данного алгоритма в клинической лабораторной диагностике позволит прогнозировать интенсивность формирования аллергических реакций, выявлять состояние «готовности» клеток-мишеней (базофилов) к дегрануляции и медиаторному ответу на специфический аллерген. Проведенное изучение специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций, с использованием представленного в нашей работе алгоритма исследования, показало специфическую активность полученного аллергена из яда пчелы.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Гушин И.С., Читаева В.Г.//Аллергия к насекомым – М. – 2003. – С.7-48.
- 2 Швец С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых // Российский аллергологический журнал – 2004. – №3. С. 9–18.
- 3 Antonicelli L., Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of hyme-noptera allergy.// Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2002 – V. 2 – P. 341–346.
- 4 Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2008 – V. 8 – P. 330–337.
- 5 Шабанов Д.В., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Гришина Т.И. Проблема аллергии к жалящим насекомым в условиях мегаполиса: Распространенность, Патогенетическое лечение // Сборник материалов IX-ого Международного симпозиума «Экология человека и медико-биологическая безопасность населения» – Франтишковы Лазне, 25 октября-01 ноября 2014 г. – С. 141-144.
- 6 Bilo M., Bonifazi F. The natural history and epidemiology of insect venom allergy.// J. Clin. Exp. Allergy–2009.–V.39–P. 1467–1476.
- 7 De Weck, A.L. Cellular allergen stimulation test (CAST) – A new dimension in allergy diagnostics/ A.L. De Weck et al.// Allergy Clin. Immunol. News. – 1993. – V. 5. – P. 9-14.
- 8 DeWeck, A.L. Flow cytometric cellular allergen stimulation Test (FAST/Flow-CAST): technical and clinical evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy/ A.L. DeWeck A.L., M.L. Sanz// ACI International. – 2002. – V.14. – P. 204-215.
- 9 Kahlert, H., Cromwell, O., Fiebig, H., Measurement of basophil-activating capacity of grass pollen allergens, allergoids and hypoallergenic recombinant derivatives by flow cytometry using anti-CD203c/H. Kahlert, O. Cromwell, H. Fiebig// Clin. Exp. Allergy. – 2003. – V.33, № 9. – P.1266-1272.
- 10 Федосеева В.Н., Орлова И.А., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г. Патент №2279888 на изобретение “Аллергоид из яда пчел для аллерген-специфической иммунотерапии больных с аллергическими реакциями на укусы пчелами и способ его получения”, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 20.07.2006