

3. Проблемы диагностики неалкогольной жировой болезни печени. Тирикова О.В., Козлова Н.М., Елисеев С.М., Гумеров Р.Р. и др. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2015. № 7. С. 33-39.
4. Обзор международных и отечественных клинических рекомендаций по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени. Голованова Е.В., Лазебник Л.Б. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2016. № 11 (135). С. 76-83.
5. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в Новосибирске (Сибирский федеральный округ): региональные данные открытого многоцентрового проспективного исследования DIREG 2. Цуканов В.В., Юркина А.С., Ушакова Т.А., Блинов Д.В. Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2016. Т. 9. № 2. С. 17-27.
6. Неалкогольная жировая болезнь печени - современный взгляд на проблему. Драпкина О.М., Смирин В.И., Ивашкин В.Т. Лечащий врач. 2010. № 5. С. 57.
7. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Liu Y.L, Reeves H.L., Burt A.D., Tiniakos D. et al. Nat Commun. 2014 Jun 30;5:4309. doi: 10.1038/ncomms5309.
8. Черкашина Е.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения неалкогольной жировой болезни печени. Медицинский совет. 2015. №4. С 67-70.
9. Редкие формы неалкогольной жировой болезни печени: наследственный дефицит лизосомной кислой липазы. Маевская М.В., Ивашкин В.Т., Жаркова М.С., Некрасова Т.П. и др. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016. Т. 26. № 3. С. 41-51.
10. Use of noninvasive markers to predict advanced fibrosis/cirrhosis in severe obesity. de Cleve R, Duarte LF, Crenitte MRF, de Oliveira CPM, Pajeccki D, Santo MA. Surg Obes Relat Dis. 2016 May;12(4):862-867. doi: 10.1016/j.soard.2015.11.011.
11. Неалкогольная жировая болезнь печени в клинике внутренних болезней. Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Буличенко М.А., Воробьев А.В. и др. Российский медицинский журнал. 2010. №28. С. 1742.
12. Успенский Ю.П. Метаболический синдром и неалкогольный стеатогепатит: причинно-слественный континуум. Современная онкология. 2009. № 1. С. 39.
13. Семендяева М.Е. Неалкогольная жировая болезнь печени как медицинская и социальная проблема. Клиническая практика №2. 2012. С. 71-80.
14. Факторы риска неалкогольной жировой болезни печени. Москаленко О.Л., Смирнова О.В., Каспаров Э.В. В книге: Наука, промышленность, экология Тезисы докладов VII Молодежной школы-конференции. Редколлегия: В.Г. Пахомова, О.В. Крюкова, Е.М. Мошкина. 2017. С. 28.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БЕЛКОВОГО И АНТИГЕННОГО ПРОФИЛЕЙ ПРЕПАРАТОВ АЛЛЕРГЕНОВ.

Невская Л.В., Лавренчик Е.А., Вдовиченко М.В., Жданова М.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE PROTEIN AND ANTIGENIC PROFILES OF ALLERGENS.

Nevskaya L.V., Lavrenchik E.I., Vdovichenko M.V., Zhdanova M.Y.

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Среди актуальных разделов современной медицины аллергология представляет проблему глобального значения. Специалисты в области аллергологии во всем мире отмеча-

ют большой рост числа людей, страдающими аллергическими заболеваниями. По данным экспертов ВОЗ у 25% населения земного шара диагностируются аллергические заболевания.

Наиболее эффективным способом лечения аллергических заболеваний является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ), проводимая с помощью причинно-значимого аллергена. Для выявления этого аллергена в проводят специфическую диагностику [1]. Российскими предприятиями (ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ, ПАО «Биомед» имени И.И. Мечникова) выпускается около 70 наименований препаратов аллергенов как лечебных, так и диагностических, представляющих собой водно-солевые растворы для инъекций [2]. Эффективность и безопасность препаратов аллергенов значительной степени определяется, качеством их стандартизации [3]. Основными показателями качества отечественных препаратов аллергенов, определяющими их эффективность, являются содержание белкового азота, подлинность, специфическая активность. Европейская Фармакопея содержит также рекомендации по оценке белкового и антигенного профилей препаратов аллергенов с помощью таких методов, как изоэлектрическое фокусирование, электрофорез с натрия додецилсульфатом в полиакриламидном геле, иммуноэлектрофорез, капиллярный электрофорез, масс-спектрометрия [4, 5]. Такой подход связан с тем, что препараты аллергенов, получаемые из природных источников, представляют собой сложный комплекс, содержащий, в том числе, белковые компоненты, как обладающие, так и не обладающие аллергенными свойствами [6, 7, 8, 9].

Целью настоящей работы является оценка применимости методов изоэлектрофокусирования и электрофореза для изучения качества препаратов аллергенов, полученных из природного сырья.

Было изучено 60 серий препаратов аллергенов и аллергоидов из пыльцы трав и деревьев (тимофеевки луговой, ежи сборной, овсяницы луговой, полыни горькой, амброзии полыннолистной, березы висячей) производства ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, с помощью следующих методов: изоэлектрофокусирование (ИЭФ), электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ), перекрестный иммуноэлектрофорез (ПИЭФ) с

использованием специфических кроличьих сывороток к аллергенам и аллергоидам. Препараты аллергенов и аллергоидов были подвергнуты диализу для удаления солей, фенола и формальдегида.

Метод ИЭФ был использован для сравнительной оценки белкового профиля одноименных аллергенов и аллергоидов разных серий одного наименования препарата. Отмечено, что 60 % выявленных белковых компонентов имели точку изоэлектрофокусирования в диапазоне рН от 4,0 до 7,0, что характерно для многих аллергенов [10]. Было установлено, что белковые компоненты аллергоидов были распределены в более узкой зоне рН (3,5-4,5) по сравнению с аллергенами. Обнаружено, что содержание белковых компонентов в аллергоидах в 2,3 раза ниже, чем в одноименных аллергенах.

При исследовании образцов разных серий препаратов выявлены различия в наборе белковых компонентов. Диапазон гетерогенности белкового состава между сериями колебался в пределах 12-60 %, что может объяснено неоднородностью природного сырья, используемого для приготовления препаратов аллергенов одного наименования [2]. Наименьшее различие в составе белков выявлено между сериями аллергена из пыльцы амброзии полыннолистной (12 %). Максимальная гетерогенность состава выявлена в сериях аллергена из пыльцы ежи сборной (53 %).

Молекулярная масса белковых компонентов в препаратах была изучена с помощью электрофореза ДСН-ПААГ в восстанавливающих условиях. Выявлено, что белки, содержащиеся в препаратах аллергенов, в процессе электрофореза разделялись на ряд полос, молекулярный вес которых, оцененный по стандартам масс, соответствовал стандартным белкам, присутствующим в аллергене определенного наименования [11]. Суммарная молекулярная масса белковых компонентов аллергоидов была на 50% выше, чем у одноименных аллергенов, что объясняется, по-видимому, полимеризацией молекул аллергена, вследствие химической модификации. По мнению некоторых авторов, именно полимеризованные молекулы аллергоида обуславливают высокую активность стимулирования блокирующих антител [12].

Антигенный профиль аллергенов и аллергоидов был изучен методом перекрестного иммуноэлектрофореза (ПИЭФ). Обнаружено, что по сравнению с аллергоидами антигенный спектр одноименных аллергенов состоит из большего числа компонентов (у аллергенов было выявлено на 50 % больше линий преципитаций с гомологичной сывороткой, чем у аллергоидов). При проведении ПИЭФ с гетерологичными сыворотками (антиаллергоидные для аллергенов и антиаллергенные для аллергоидов) пики преципитации у одноименных аллергенов и аллергоидов совпали в 75 % случаев. Вероятно, это можно объяснить присутствием различных антигенных детерминант у аллергенов и аллергоидов. Это может служить объяснением сохранения способности аллергоида стимулировать выработку антител, специфичных к исходному аллергену, у лабораторных животных.

Таким образом показано, что методы изоэлектрофокусирования и электрофореза позволяют не только оценить белковый и антигенный состав исследуемых препаратов аллергенов, но и выявить различия между аллергенами и аллергоидами, что позволяет рекомендовать применение этих методов для оценки белкового профиля стандартных образцов аллергенов, как предусмотрено требованиями, описанными в ГФ XIII (ОФС «Аллергены») [13].

ЛИТЕРАТУРА.

1. Хаитов Р.М. Ильина Н.И. Аллергология и иммунология: Национальное руководство. М.: Геотар-Медиа. 2009.
2. Государственный реестр лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации [Электронный ресурс] URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения: 13.01.2017).
3. Федосеева В.Н., Камышева В.А., Кравченко С.А. с соавт. Проблема контроля стандартизации аллерговакцин. Биопрепараты, 2010, № 1 (37), 14-15.
4. Allergen product. European Pharmacopeia 9.0. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
5. Боков Д. О., Смирнов В. В. Особенности стандартизации экстрактов аллергенов, как иммунобиологических препаратов, применяемых при диагностике и лечении аллергических заболеваний // Молодой ученый. — 2014. — №2. — С. 296-304.
6. Asero R., Wopfner N., Gruber P. et al. Artemisia and Ambrosia hypersensitivity: co-sensitization or co-recognition? Clin. Exp. Allergy, 2006, 36(5): 658-665.
7. Ladics G. S., Bannon G. A., Silvanovich A., Cressman R. F. Comparison of conventional FASTA identity searches with the 80 amino acid sliding window FASTA search for the elucidation of potential identities to known allergens. Molecular Nutrition & Food Research, 2007, 51 (8): 985-998.
8. Mueller G., Gosavi R., Krahn L., Cuneo M. et al. Der p 5 Crystal Structure Provides Insight into the Group 5 Dust Mite Allergens. J. BIOL. CHEM., 2012, 285 (33): 25401-25401.
9. Allergen nomenclature// Bulletin of WHO, 72 (2), 797-806 (1994).
10. Гущин И. С. Аллергия, аллергены: индукция и регуляция синтеза (часть I) Available from: <http://gastroportal.ru/php/content.php?id=1510> (дата обращения 10.01.2018).
11. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee. Available from: <http://www.allergen.org/index.php>.
12. Хутуева С. Х., Федосеева В. Н. Аллергенспецифическая иммунотерапия бронхиальной астмы. — М., 2000. — 250 с.
13. ОФС 1.7.1.0001.15. Аллергены. Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т 2. М.; 2015. С 454-64. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.