

УДК: 577.2 – 021.3: 612.017.1

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ОТДЕЛЬНЫМ МОЛЕКУЛАМ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДАННЫХ ТЕСТОВ В АЛЕРГОЛОГИИ

ПРИЛУЦКИЙ А.С., ТКАЧЕНКО К.Е.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Обсуждая вопросы развития современной аллергологии, следует отметить постоянный прогресс методов, используемых для диагностики сенсibilизации, как лабораторных, так и клинических. Следует отметить, что в настоящее время, наряду с методами диагностики и лечения аллергии с помощью смеси экстрактов различных пыльцевых, бытовых и других аллергенов внешней среды, начали изучаться и использоваться тесты, основанные на выявлении аллергии к отдельным молекулам, а также рекомбинантные вакцины. Начала разрабатываться и использоваться так называемая, молекулярная аллергология [1,2,3,4]. На данном этапе выделено более 700 нативных и рекомбинантных молекул аллергенов, которые потенциально могут быть исследованы *in vitro* на предмет наличия к ним специфических IgE-антител [5].

Несмотря на всю очевидную сложность развития данной сферы науки, мы уже точно знаем, что молекулярная диагностика может обеспечить ценную дополнительную информацию для врачей аллергологов [1,2,4]. Однако чрезвычайно важно понимать истинную значимость данных разработок, как для научно-исследовательской деятельности, так и для практической медицины. При этом, несмотря на достаточно большое количество доступной информации по молекулярной аллергологии, остается много нераскрытых или недостаточно изученных вопросов, как научных, так и прикладных, касающихся показаний к назначению данной группы исследований, интерпретации полученных результатов, а также, что особенно важно, проведения молекулярной специфической иммунотерапии (мСИТ) [1,6,7,8,9].

**Целью** данного обзора является рассмотрение, существующих на данный момент времени, подходов к использованию молекулярных методов в аллергологии, а также определение наиболее рациональных из них в науке и практике.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами отобраны и детально проанализированы работы последних лет, посвященные вопросам молекулярной аллергологии. За основу взят документ консенсуса 2013 года, разработанного *World Allergy Organization* по вопросам молекулярной диагностики аллергии [1].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.

Одними из основных задач диагностики в аллергологии являются определение релевантных аллергенов и перекрестной сенсibilизации. Следует отметить, что проведения традиционных диагностических тестов и клинического анамнеза не всегда достаточно для постановки этиологического диагноза и подбора соответствующей СИТ. Необходимо указать, что в ряде случаев диагностика должна проводиться с использованием молекулярных аллергенов.

Определение причинного аллергена особенно важно, поскольку только СИТ является тем методом, который способен индуцировать специфическую толерантность, и подавлять специфически аллергическую реактивность организма, модифицируя иммунный ответ [10,11,12].

Следует отметить, что наличие аллергии и перекрестной аллергической реактивности можно определять различными методами, в том числе как клиническими, так и лабораторными, основанными на использовании полных экстрактов аллергенов. В процессе сравнения результатов оценки клинической реактивности и сенсibilизации к смеси экстрагируемых аллергенных молекул, принадлежащих к определённому аллергенному продукту, определено, что есть отдельные молекулы, обуславливающие перекрёстную реактивность, в том числе и неродственных ресурсов [1,4]. Именно на основе анализа клинической реактивности больных, результатов диагностики, как *in vivo*, так и *in vitro*, полными экстрактами аллергенов изначально были сформулированы синдромы перекрёстной реактивности такие как: фрукты - овощи, яйцо - птица, полынь - сельдерей и другие [13,14,15,16]. Необходимо упомянуть, что наличие клинических реакций к определённому перечню продуктов при наличии пыльцевой аллергии позволяет с большой надёжностью поставить клинически диагноз аллергии к отдельным молекулам.

Однако, следует отметить, что в связи с различиями интенсивности сенсibilизации и особенностей клинической реактивности пациента ситуация может быть более сложной в результате неполной клинической реакции (не 100% аллергический вызов) и требовать выявления сенсibilизации с помощью объективных мето-

дов діагностики, як *in vivo*, так і *in vitro*, використовуючи повні екстракти алергенів. Исходя из нашего опыта во многих случаях эта диагностика полными экстрактами алергенів при достаточном перечне тестируемых алергенных продуктів (в ряде случаев, например при пищевой алергии, тестируются все возможные используемые продукты) и др., является достаточной для определения диетических мероприятий или гипоалергенного режима (при тестировании и выявлении бытовой, пылевой алергии), и дает положительный клинический эффект.

Следует подчеркнуть, что молекулярная диагностика способна отличать и подтверждать истинную сенсипилизацию от сенсипилизации опосредованной перекрестной реактивностью алергенів. Данная информация в свою очередь позволяет установить какое количество источников алергенів необходимо учитывать при выборе специфической иммунотерапии, выбрать основные из них [1]. Однако нельзя забывать, что с одной стороны при исследовании ограниченной панели отдельных молекул алергенів, наличие сенсипилизации может быть обнаружено только для тех из них, которые были включены в данную панель. Иными словами полученные результаты могут быть не информативны или информативны только в том случае, если оценивался полный спектр алергенных молекул, присущих исследуемым алергенным ресурсам, необходимым конкретному пациенту [1, 17, 18]. Обращается внимание на увеличение количества выявляемых положительных результатов при увеличении количества одновременно тестируемых молекул [17, 19]. В случае же когда на предмет наличия к ним сенсипилизации были исследованы только единичные молекулы алергенів, или включены не те молекулы, полученный IgE – профиль будет менее точным и малоинформативным [1, 18].

Использование большого количества рекомбинантных или нативных молекул, конечно, может быть весьма затруднительно, как с практической, так и с экономической точки зрения. Однако с уверенностью уже сейчас можно говорить, что методы молекулярной диагностики требуются далеко не всем пациентам. Об этом свидетельствует и наш клинический опыт. Использование анамнеза совместно с данными тестирования специфических IgE полными экстрактами алергенів с помощью разработанных первых отечественных иммуноферментных тест-систем, имеющих высокую чувствительность (до 0,05-0,075 МЕ/мл) может обеспечить необходимую информацию для проведения специфических антиалергических мероприятий у большинства из обследованных лиц. Многие пациенты нами обследованы таким образом, и только единицам для

уточнения диагноза требовалась молекулярная диагностика. При этом ряд алергологических лабораторий, использующих до 5-10 импортных тестів, выявляющих алергию к отдельным продуктам, и тестирующих сенсипилизацию примерно к такому же количеству алергенных молекул, проводящих вместе с этим диагностике преимущественно микстами, в связи с дороговизной обследования, неспособны решить вышеуказанные проблемы. В настоящее время при обследовании многих больных в подобных центрах Украины чувствуется необходимость расширения спектра исследования. И здесь, конечно, наряду с имеющимися данными анамнеза и осмотра, возможность уточнить, скорректировать эти данные и предоставить, при необходимости, ориентиры для проведения целенаправленного исследования антител класса IgE к отдельным молекулам различного рода ресурсов даст дешевое и качественное иммуноферментное определение IgE антител к полному экстракту алергенів конкретных продуктів, пыльцы и пр. Следует отметить, что даже в сложных диагностических случаях при наличии отдельных типов полисенсипилизации, связанных с перекрестно реагирующими паналлергенами и др., у больных риноконъюнктивитом и бронхиальной астмой, вызванных наиболее типичными аэроаллергенами, молекулярная диагностика определяет наличие доминантных молекул, обуславливающих сенсипилизацию, и способствует уточнению диагноза далеко не у всех пациентов. Например, только у 30% больных диагноз был изменен на основании, так называемой, *component resolved* диагностики (компонент-определяющей диагностики) [20]. Несомненно, в зависимости от особенностей выборки пациентов этот процент будет существенно колебаться. Так в педиатрической практике потребность в дополнительном молекулярном обследовании существенно меньше. Следует также отметить, что такого рода алергия, как правило, регистрируется менее часто среди детей младшего возраста, и только после 6 лет возникает сенсипилизация к перекрестно реагирующим алергенным детерминантам [21]. Полученные нами данные также в принципе согласуются с данным утверждением.

Помимо этого необходимо указать, что при отсутствии клинических ориентиров и/или результатов обследования полными экстрактами алергенів выбор оптимального спектра диагностического обследования отдельных молекулярных алергенів существенно затруднен, а в ряде случаев невозможен [1]. Целенаправленный молекулярный анализ в большинстве случаев возможен только на основании глубокого клинического анализа результатов анамнеза, клиники и особенностей течения забо-

левания с оценкой результатов тестирования полными экстрактами аллергенов как *in vivo* так и *in vitro*. Хорошо, когда яркая клиническая картина реакций на пищевые продукты, пыльцевые и другие аллергены подсказывает направление диагностики специфической сенсибилизации к отдельным молекулам. Однако во многих случаях, когда этого не наблюдается (а это не наблюдается в подавляющем большинстве случаев, особенно в детском возрасте), мы должны и мы можем уточнить спектр сенсибилизации полными экстрактами аллергенных продуктов и др.

Кроме того следует ещё раз подчеркнуть, что результаты всех видов алергодиагностики, в том числе и молекулярных методов, должны оцениваться в рамках клинического анамнеза больного, поскольку наличие IgE-сенсибилизации к какому-либо аллергену не обязательно подразумевает клиническую реакцию организма [1,18,22]. Это имеет особое значение, поскольку всем пациентам с аллергией присущ свой собственный уникальный молекулярный профиль IgE – антител, что и определяет индивидуальную реактивность организма по отношению к различным аллергенам [23]. Так, когда результаты исследования уровней специфических IgE не согласуются с клинической историей болезни, лабораторные данные должны быть подтверждены повторными или альтернативными исследованиями. В конечном счете, клинический анамнез больного остается решающим фактором, определяющим заключительный диагноз аллергического заболевания [24].

Необходимо также указать, что синтез рекомбинантных молекул достаточно сложен, и ряд молекул не могут в настоящее время синтезироваться или плохо воспроизводятся в данных условиях. При этом имеет значение количество в нативных молекулах дисульфидных связей, гликозилирование и пр., что может определять их функциональные способности [25], а следовательно их диагностические и лечебные возможности.

Очень важно отметить, что в большинстве исследований сравнительной оценки эффективности диагностики с использованием отдельных рекомбинантных или нативных молекул и соответствующих экстрактов не проводилось [26]. Среди небольшого количества работ посвященных этой теме можно отметить, что в ряде случаев преимуществ в тестировании отдельными рекомбинантными молекулами или экстрактом аллергена не было получено. Более того, было отмечено неполное выявление аллергиков, а также получение ложных отрицательных результатов, при использовании рекомбинантных аллергенов [27]. Интересно отметить, что в исследовании, посвященном сравнению диа-

гностической информативности молекулярных и полной смеси экстрагированных аллергенов, на примере аллергии к шерсти собак и кошек, было продемонстрировано отсутствие каких-либо преимуществ молекулярных методов по сравнению с использованием экстрактов при первичном скрининге аллергии [28]. Также авторы сообщают, что использование молекулярных аллергенов клещей домашней пыли имеет второстепенную диагностическую значимость, поскольку молекулярные аллергены обладают значительно меньшей чувствительностью по сравнению с экстрактами. Другие авторы в аналогичном исследовании также пришли к выводу, что использование, как экстрактов аллергенов, так и отдельных молекул, одинаково допустимо при диагностике аллергии к пыльце сорных трав, березы и шерсти кошек [29]. Также в этой работе было установлено, что микрочиповый молекулярный анализ хотя и обладает меньшей чувствительностью, но все же может использоваться в диагностике аллергии к домашней пыли, в то время как молекулярная диагностика аллергии к полыни требует использования альтернативных и/или дополнительных молекул. Необходимо также отметить, что релевантность молекулярных методов, в том числе зависит от характера диагностируемой аллергической реакции. Так *S. Tresch и др.* в своей работе продемонстрировали, что у большинства пациентов с пыльцевой аллергией к березе использования изолированного молекулярного аллергена *rBet v 1* достаточно для надежной диагностики, и сопоставимо с использованием экстракта аллергенов при проведении кожной провокационной пробы [30]. На фоне этого, выполнение назальной провокационной пробы характеризовалось меньшей чувствительностью по сравнению с использованием экстракта пыльцевых аллергенов березы, и требовало большего количества *rBet v 1*. В то же время, в другом исследовании было продемонстрировано наличие более высоких уровней специфических IgE к очищенным нативным и рекомбинантным аллергенам, нежели к неочищенным экстрактам, у больных с аллергическим ринитом и астмой, что позволяет предположить наличие преимуществ использования молекулярных аллергенов над экстрагированной смесью [31].

Исходя из ряда данных, следует указать, что молекулярные методы имеют потенциальную способность оценивать риск развития системных аллергических реакций, по сравнению с развитием локальных [1]. Указывается, что молекулярные различия в профилях сенсибилизации пациентов могут соотноситься с проявлениями и тяжестью аллергии, при этом определение мажорных и минорных аллергенов представляет особый интерес [1]. Эти знания

могут позволить избежать в ряде случаев таких потенциально опасных диагностических процедур как провокационные тесты, а также усовершенствовать терапевтические рекомендации для больных с пищевой, респираторной и латексной аллергией [32,33].

Необходимо указать, что полисенсibilизация к нескольким различным молекулярным аллергенам одного источника также может усугублять клиническую картину аллергии [34,35]. Тем ни менее, следует четко осознавать, что профили сенсibilизации, как к пищевым, так и к ингаляционным аллергенам, а вместе с тем и клинические проявления, могут различаться в зависимости от особенностей местных факторов окружающей среды конкретного географического региона. Именно поэтому все имеющиеся сведения о мажорных и минорных антигенах какого-либо аллергенного ресурса и сопутствующих им рисках тяжелого течения аллергии не являются универсальными, и применимы только для специфической популяции, которая была изучена [36].

Следует ещё подчеркнуть, что для большинства пациентов детально собранного анамнеза и традиционных тестов для определения специфических IgE, основанных на экстрагированных аллергенах, как правило, достаточно для выявления причинных аллергенов. Данное мнение поддерживается большинством исследователей [1,37]. Сложности в диагностике могут возникнуть, как уже было упомянуто, у полисенсibilизированных лиц, которые могут составлять достаточно большую долю пациентов [38,39]. Известно много случаев, когда при использовании экстрактов аллергенов - прик-тест (SPT) и/или определение специфических IgE, множественные положительные результаты были получены вследствие наличия в диагностических экстрактах перекрестнореагирующих аллергенов [40,41]. При этом отличить истинную сенсibilизацию от перекрестных реакций может быть весьма затруднительно. Тем не менее, данная проблема может решаться путем приготовления вакцин для СИТ, содержащих смесь всех аллергенов, к которым была выявлена сенсibilизация [42,43].

Более точно определить наиболее релевантный сенсibilизирующий аллерген, на который должна быть нацелена СИТ, можно используя методы молекулярной диагностики. Технологии производства высококачественных рекомбинантных вакцин с заданными молекулярными, иммунологическими и биологическими свойствами в настоящее время уже в определенной степени изучены. При этом важно указать, что использование методов генной инженерии в аллергологии позволяет модифицировать молекулярную структуру аллергена таким обра-

зом, что на фоне уменьшения его аллергенной активности будут повышаться его иммуногенные свойства [44]. Следует отметить, что для этих целей возможно использовать не только большие рекомбинантные молекулы но и пептиды [45,46]. Особый практический интерес представляет создание гипоаллергенных рекомбинантных вакцин. Входящие в состав таких вакцин рекомбинантные белки и/или пептиды, соединяясь с неаллергенными субстратами могут активировать защитные IgG - зависимые механизмы, оставляя при этом интактными аллергенспецифические IgE и Т-лимфоциты. Подобного рода препараты могут вводиться в достаточных больших дозах, не вызывая при этом IgE-опосредованных и Т-клеточных побочных реакций. Важным этапом является подтверждение их эффективности и безопасности в клинических испытаниях, и только в таком случае данная группа вакцин сможет получить широкое распространение в практической медицине [47,48]

На основании данных ряда опубликованных исследований [49,50,51,52], посвященных изучению молекулярной специфической иммунотерапии, можно заключить, что данный вид лечения в будущем сможет представлять собой хорошую альтернативу традиционной СИТ для лечения больных, особенно респираторной аллергией [44]. Кроме того, ряд авторов находит использование рекомбинантных вакцин для специфической иммунотерапии более безопасным в связи с меньшим риском развития анафилактических реакций и дополнительной сенсibilизации [53,54]. Тем не менее, необходимо провести большее количество исследований, для статистического подтверждения преимуществ этих препаратов. Отбор пациентов для исследований данного типа должен осуществляться согласно определенным клиническим критериям. При этом обязательной является стандартизация клинических результатов [44].

Теоретически, а в дальнейшем и практически, детальное изучение молекулярного профиля IgE-антител, может позволить разработать схемы специфической иммунотерапии, содержащей в своем составе только те аллергенные молекулы, к которым сенсibilизирован каждый конкретный пациент. К сожалению, в настоящее время реализовать данный подход на практике полностью не представляется возможным. В первую очередь, следует понимать, что при учете всех аллергенных источников у полисенсibilизированных лиц, число возможных комбинаций профилей сенсibilизации очень велико [23]. Кроме того ряд исследований показал, что использование рекомбинантных вакцин может не показывать лучших клинических результатов, в сравнении с традиционными экстракта-

ми алергенов [55,56]. Возможно, вклад в этот феномен вносит обнаруженное существующее разнообразие изоформ каждой алергенной молекулы [57].

Тщательный отбор изоформ для каждого алергена и соблюдение строгих требований производства данных продуктов также представляют собой фундаментальный вопрос в развитии рекомбинантной СИТ [44]. Также, не следует забывать, что каждый рекомбинантный алерген должен индивидуально тестироваться, и быть зарегистрирован. Все эти факторы могут привести как к высокой стоимости программы развития данного направления, так и высокой конечной стоимости продукта. Данные нерешенные проблемы могут частично объяснить, почему новые вакцины с использованием рекомбинантных алергенов, вероятнее всего, не станут доступными для рутинной практики в самом ближайшем будущем [44].

Кроме всего прочего, при дальнейшем развитии производства рекомбинантных алергенов для мСИТ, существует острая необходимость сосредоточить внимание на некоторых сложных алергенах, таких как клещи домашней пыли, которые имеют доказанную причинную связь с развитием персистирующих алергических респираторных заболеваний во всем мире [44]. Также важно отметить, что многие алергенные ресурсы (например, орехи, плесневые грибки, пыльца деревьев и сорных трав) нуждаются в более глубоком изучении присущих им наиболее релевантных алергенов с параллельной оценкой их клинической значимости. Таким образом, к сожалению, в реальности внедрение в широкую практику индивидуально подобранной мСИТ может находиться в далеком будущем [58].

Тем не менее, уже сейчас понятно, что молекулярные методы могут принести значительную пользу при выборе СИТ, определении перекрестной реактивности алергенов, а также оценке степени тяжести возможных алергических реакций, ассоциированных с различными алергенами. Особенно это может быть актуально для полисенситивизированных пациентов с неясной клинической картиной, и не отвечающих на проводимое лечение. В то же время у моносенситивизированных пациентов с типичным анамнезом заболевания и характерной симптоматикой использование молекулярной диагностики вероятнее всего не принесет дополнительной пользы по сравнению с рутинными методами [1].

Безусловно, клиническая эффективность рутинных методов диагностики может быть повышена с применением молекулярного анализа. Кроме того, в отдельных случаях молекулярная диагностика способна уменьшить потребность

в проведении провокационных проб при пищевой аллергии, а также оптимизировать выбор СИТ. Вместе с тем, для дальнейшего определения категорий пациентов, которым может быть полезен молекулярный анализ, необходимо проведение крупномасштабных, многоцентровых популяционных исследований. [33,59]. При этом следует учитывать особенности каждой конкретной популяции, доступность тестов, их относительную безопасность, стоимость и диагностические возможности [60]. Отбор алергенов для молекулярной диагностики также должен производиться с учетом их практической пользы, оцененной на основании данных ряда масштабных исследований. Этот вопрос также нуждается в дальнейшем изучении [7,61]. Подобные исследования должны включать хорошо охарактеризованные группы пациентов с аллергией, а также контрольные группы здоровых лиц, при этом, полученные сведения должны быть репрезентативны относительно представителей различных географических регионов. [44,54,62,63]. Кроме всего прочего, следует учитывать экономическую пользу молекулярных методов диагностики, то есть необходимость данных тестов и сопутствующие их использованию экономические затраты. Такая оценка экономической эффективности методов обязательно должна включать сравнение эффективности молекулярного анализа и более доступных в настоящее время традиционных методов диагностики аллергии (определение специфических IgE к полной смеси алергенов и прик-тесты и др.).

На данный момент времени, по данным консенсуса 2013 года лишь одно исследование, посвященное изучению экономической эффективности методов диагностики пищевой аллергии, было опубликовано и является доступным к прочтению [1,64]. При этом в данной работе показано, что, как традиционное исследование уровней IgE-антител, так и SPT, являются более эффективными методами с экономической точки зрения, по сравнению с оценкой клинического анамнеза больного без лабораторной диагностики. Возвращаясь к вопросу молекулярных методов в алергологии, следует обратить внимание на то, что до настоящего времени не существует публикаций по сравнительной оценке экономической эффективности данных методов с традиционными, что лишний раз подчеркивает необходимость более глубокого анализа эффективности затрат в молекулярной диагностике аллергии [1].

Молекулярные методы диагностики аллергии были разработаны более десятилетия назад. И уже сейчас наличие достаточно большого количества сравнительно доступных молекул алергенов существенно изменило диа-

гностические подходы отдельных аллергологов [4,65]. В настоящее время международные ведущие принципы алергодиагностики заключаются в тщательном исследовании клинического анамнеза больного в качестве первой линии диагностики [1]. На втором этапе для определения источников причинных аллергенов следует исследовать уровни специфических IgE к полным экстрактам аллергенов и проводить кожные прик-тесты [1,66]. Как SPT, так и исследование уровней специфических IgE к данным экстрактам аллергенов, в целом, предоставляют аналогичную информацию, при этом возможные достоинства и недостатки обоих типов диагностики, прежде всего, зависят от конкретного клинического случая. Тем не менее, для большинства пациентов проведения первой и второй линии исследований обычно достаточно для установления природы аллергической реакции и выбора оптимальной тактики лечения [1]. Мы считаем, что позиционирование в нашем государстве отдельными учёными методов молекулярной диагностики как единственных, которые следует рассматривать при лабораторной диагностике, мягко говоря, ошибочно. Много раз в истории, и даже в течение собственной жизни, мы сталкивались с такими не до конца продуманными подходами, нереальной гиперболизацией их преимуществ. Мы считаем, что в настоящее время молекулярные методы не следует рассматривать в качестве альтернативы традиционным и выбора первой линии. Данные методы должны использоваться при необходимости как дополнительный диагностический инструмент к более дешевым традиционным тестам определения IgE. Данные подходы разделяют и большинство ведущих специалистов аллергологов мира [1,26,66]. Следует подчеркнуть дополнительно, что всемирно принятый ведущими специалистами международного уровня консенсус 2013 года, посвященный обсуждению вопросов молекулярной диагностики аллергии, говорит о том же [1]. В данном документе указано, что молекулярные методы следует рассматривать в качестве третьей линии диагностики, и применять у тех пациентов, для которых первая и вторая линии были неэффективны. Справедливо, однако, будет сказать, что более опытные диагносты могут использовать молекулярные методы уже на втором этапе исследований [1]. Тем не менее, в данный момент времени важно помнить указания на то, что молекулярная диагностика, никоим образом, не может заменить существующие традиционные тесты [1,63], в том числе провокационные тесты и др. [22, 67]. Следует подчеркнуть, что разрабатываемые алгоритмы, как обязательный этап, включают предвари-

тельное использование анализа клинических проявлений и анамнеза пациента, пробы SPT и определение специфических IgE полными экстрактами аллергенных продуктов [68].

Вместе с тем, прекрасно ясна важность и перспективность исследований и разработок в области диагностики аллергии с использованием отдельных молекул. В настоящее время в Украине специалистами Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького и ООО «Укрмед-Дон» (г. Донецк) для населения Украины созданы, и государственно зарегистрированы, первые отечественные иммуноферментные тест-системы для диагностики специфических IgE антител с использованием полных экстрактов аллергенных продуктов. Уже показано, при тестировании аналогичных экстрактов, что данные тест системы не уступают по качеству продукции признанным производителям диагностических тест-систем в мире [69]. Вместе с тем они значительно доступнее по ценовой политике. Немаловажным является то, что данные системы иммуноферментные и не требуют для проведения анализов покупки специальных приборов. Для выполнения их подходит любой иммуноферментный анализатор. Очень важным является то, что уже в настоящее время имеется возможность тестирования более чем 260 продуктов и аллергенов, которые используют для питания и с которыми контактируют наши граждане, как дети, так и взрослые. Немаловажно, что в комплексе аллергенов, к которым определяются IgE антитела, имеются продукты, которые на территории Украины используют для питания наши дети и взрослые [70]. Это сорта рыб (пеленгас, толстолобик и др.), молочные продукты (кефир, ряженка и др.), сорта яблок (Семеренко, Айдаред, Антоновка и др.) и других фруктов, которые растут и потребляются в Украине. Никакими другими тест-системами определить сенсibilизацию к ним невозможно. Впервые в мире, применяя авторские методы, экстрагированы аллергены из растительных масел (подсолнечного, оливкового, облепихового) и созданы системы для диагностики специфических IgE антител. Также впервые в мире разработаны и начали тестироваться иммуноферментные тест-системы к цельным продуктам, состоящих из комбинации различных аллергенов (комбинированные аллергены) - печенье и другие хлебобулочные изделия, производимые в Украине.

Следует отметить, что специалистами Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького и ООО «Укрмед-Дон» (г. Донецк) начаты работы в области молекулярной аллергологии. Разработан уже ряд тест-систем для диагностики IgE антител к отдель-

ним молекулам різних алергенних ресурсів. Це казеїн коров'ячого молока, бичий, людський сировотковий альбумін, ендотоксин, *Der p1* і інші. Слід відзначити, що в зв'язі з перспективністю розвитку молекулярної алергології і необхідністю скоршого створення в Україні широкого переліку вітчизняних тест-систем для діагностики алергії к основним молекулам, викликаючим як перехрестні реакції, так і специфічних для кожного ресурса, а також пептидних і рекомбінантних вакцин, несомненно, необхідно інтенсифікувати дослідження і розробки в даній області. В наші часи, звичайно ж, недостатньо зусиль декількох ентузіастів. В зв'язі з важливістю розвитку молекулярної алергології в Україні вистає питання про необхідності створення і затвердження державної фінансованої програми по питанню розробки діагностичних і лікувально-профілактичних препаратів. Спеціалісти для цього в нашій країні існують.

### **ВИВОДИ**

1. Таким чином, резюмуючи все вищеозначене, можна сказати про те, що в наші часи молекулярна алергологія представляє собою ще малоізнану, але, безсумнісно, дуже перспективну галузь науки.
2. Необхідно підкреслити, що молекулярна діагностика алергії не повинна замінювати традиційні методи алергодіагностики, і повинна використовуватися на основі результатів клінічного аналізу і лабораторного тестування повної суміші екстрагованих алергенів.
3. На даному етапі молекулярна діагностика алергії не може використовуватися як перша і єдина лінія діагностики, а може застосовуватися на третьому етапі досліджень, доповнюючи інформацію, отриману при зборі клінічного анамнезу, і виконанні традиційних тестів, заснованих на суміші екстрагованих алергенів.
4. Даний логічний і економічно обґрунтований підхід дозволить обґрунтовано і раціонально застосовувати методи молекулярної діагностики алергії і, несомненно, буде сприяти підвищенню її ефективності.
5. Важливо продовжувати початі розробки в даній галузі в світі і нашій країні, надаючи особливу увагу удосконаленню методики молекулярного аналізу і проведенню порівняльної оцінки клінічної і

економічної ефективності молекулярних підходів до діагностики і лікування алергії традиційними методами.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. A WAO - ARIA - GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics/ G. W. Canonica, I. J. Ansotegui, R. Pawankar [et al.]// World Allergy Organization Journal. - 2013. - Vol.6. - I.17.
2. Food allergy as defined by component resolved diagnosis/ C. Incorvaia, A. Rapetti, M. Aliani [et al.]// Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. - 2014. -Vol.8. - I.1. - P.59-73.
3. Heterogeneity of molecular sensitization profiles in grass pollen allergy implications for immunotherapy? [Electronic resource]/ U. Darsow, K. Brockow, F. Pfab [et al.]// Clin Exp Allergy. - 2014. - Access mode to the journal: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24598010>.
4. *Sicherer S.H.* Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment/ S.H. Sicherer, H.A. Sampson// J Allergy Clin Immunol. - 2014. Vol.133. - I.2. - P.291-307.
5. Allergen Nomenclature [Electronic resource] / IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee// Access mode to the site: <http://www.allergen.org/>.
6. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E/ B. Jahn-Schmid, C. Harwanegg, R. Hiller [et al.]// Clin Exp Allergy. - 2003. - Vol.33. - I.10. - P.1443-1449.
7. *Schmid-Grendelmeier P.* Recombinant allergens. For routine use or still only science?/ P. Schmid-Grendelmeier// Hautarzt.- 2010. - Vol. - 61. - I.11. - P.946-953.
8. *Spertini F.* What to expect from allergy tests?/ F. Spertini, A. Leimgruber, P.A. Bart// Rev Med Suisse. - 2011. - Vol.7. - P.856-859.
9. The diagnosis of food allergy: a systematic review and meta-analysis/ K. Soares-Weiser, Y. Takwoingi, S.S. Panesar [et al.]; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group// Allergy. - 2014. - Vol. 69. - I.1. - P.76-86.
10. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases/ J. Bousquet, R. Lockey, H.J. Malling [et al.]// Ann Allergy Asthma Immunol. - 1998. - Vol.81. - P.401-405.
11. Sub-lingual immunotherapy: world allergy organization position paper/ G.W. Canonica, J. Bousquet, T. Casale [et al.]// Allergy. - 2009. - Vol. 64. - P.1-59.

12. *Jutel M.* Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy/ M. Jutel, C.A. Akdis// *Allergy*. - 2011. – Vol.66. – P.725–732.
13. Melon and banana sensitivity coincident with ragweed pollinosis/ L.B. Anderson, E.M. Dreyfuss, J. Logan [et al.] *J Allergy*. – 1970. – Vol. – 45. – P.310-319.
14. *Wüthrich B.* Das 'Sellerie-Karotten-Beifuß-Gewürz-Syndrom'. Hauttest- und RAST-Ergebnisse/ B. Wüthrich, R. Dietschi// *Schweiz Med Wochenschr.* - 1985. – Vol.115. – P.358-364.
15. Cross-reactivity among birch pollen, vegetables and fruits as detected by IgE antibodies is due to at least three distinct cross-reactive structures/ P.G. Calkhoven, M. Aalbers, V.L. Koshte [et al.]// *Allergy*. – 1987. – Vol.42. – P.382-390.
16. Common epitopes of birch pollen and apples – studies by Western and Northern blot/ C. Ebner, T. Birkner, R. Valenta [et al.]// *J Allergy Clin Immunol.* – 1991. – Vol.88. – P.588-594.
17. *Mari A.* Skin test with a timothy grass (*Phleum pratense*) pollen extracts vs. IgE to a timothy extract vs. IgE to rPhl p1, rPhl p2, rPhl p4, rPhl p5, rPhl p6, rPhl p7, rPhl p11, and rPhl p12: epidemiological and diagnostic data/ A. Mari// *Clin Exp Allergy*. – 2003. – Vol.33. – P.43-51.
18. Component resolved diagnosis in real life: the risk assessment of food allergy using microarray-based immunoassay/ L. Antonicelli, C. Massaccesi, M. Braschi [et al.]// *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* – 2014. – Vol.46. – I.1. – P.30-34.
19. Purified allergens vs. complete extracts in the diagnosis of plane tree pollen allergy/ J.A. Asturias, I. Ibarrola, P. Amat [et al.]// *Clin Exp Allergy*. – 2006. – Vol.36. – P.1505-1512.
20. Comparison of conventional and component resolved diagnostics by two different methods (Advia-Centaur/Microarray-ISAC) in pollen allergy/ M. T. Lizaso, B. E. Garcia, A. I. Tabar [et al.]// *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2011. – Vol. – 107. – P.35– 41.
21. The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: a cross-sectional study/ G. Melioli, L. Marcomini, A. Agazzi [et al.]// *Pediatr Allergy Immunol.* – 2012. – Vol.23. – P.433–440.
22. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy/ H. Ott, J.M. Baron, R. Heise [et al.]// *Allergy*. – 2008. – Vol. – 63. – I.11. – P.1521-1528.
23. Molecular profiles of IgE to *Phleum pratense* in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy/ S. Tripodi, T. Frediani, S. Lucarelli [et al.]// *Allergy Clin Immunol.* – 2012. – Vol.129. – P.834–839.
24. *Hamilton R.G.* Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity/ R.G. Hamilton// *J Allergy Clin Immunol.* - 2010. – Vol.125. – P.284-296.
25. Differential immunogenicity and allergenicity of native and recombinant human lactoferrins: Role of glycosylation/ R.J. Almond, B.F. Flanagan, A. Antonopoulos [et al.]// *Eur. J. Immunol.* - 2013. – Vol. 43. – P.170–181/
26. *Wolthers O.D.* Component-resolved diagnosis in pediatrics [Electronic resource]/ O.D. Wolthers// *ISRN Pediatr.* – 2012. - Access mode to the journal: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22919510>.
27. Measurement of IgE antibodies against purified grass-pollen allergens (Phl p 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, and 12) in sera of patients allergic to grass pollen/ R. E. Rossi, G. Monasterolo, S. Monasterolo// *Allergy*. - 2001. - Vol.56. – P.1180–1185.
28. The diagnostic performance of allergen-molecules in comparison to allergen-extracts/ I.J. van der Linden , M.J. de Groot , N.C. de Jong [et al.]// *Clin Chem Lab Med.* – 2011. – Vol.50. – P.129-132.
29. The performance of a component-based allergen-microarray in clinical practice/ S. Wohrl, K. Vigl, S. Zehetmayer [et al.]// *Allergy*. - 2006 . – Vol.61. –P.633-639.
30. In vitro and in vivo allergenicity of recombinant Bet v 1 compared to the reactivity of natural birch pollen extract/ S. Tresch, D. Holzmann, S. Baumann [et al.]// *Clin Exp Allergy*. – 2003. – Vol.33. – P.1153-1158.
31. Component-resolved diagnosis for phleum allergy: the role of recombinants/ M. De Amici, R. Alesina, R. Moratti, G. Ciprandi// *Asthma*. - 2010. – Vol.47. – P.750-753.
32. *Sastre J.* Molecular diagnosis in allergy/ J. Sastre// *Clin Exp Allergy*. – 2010. – Vol.40. – P.1442–1460.
33. *Treudler R.* Overview of component resolved diagnostics/ R. Treudler, J.C. Simon// *Curr Allergy Asthma Rep.* - 2013. – Vol. 13. – P.110–117.
34. *Nicolaou N.* Molecular diagnosis of peanut and legume allergy/ N. Nicolaou, A. Custovic// *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* – 2011. – Vol. 11. – P.222–228.
35. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanutsensitized children/ S. Glaumann, A. Nopp, S.G. Johansson [et al.]// *Allergy*. – 2012. – Vol. 67. – P.242–247.

36. Component-resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe/ K.S. Hansen, B.K. Ballmer-Weber, J. Sastre [et al.]// *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol.123. – I.5. – P.1134.
37. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the world health organization, GA(2)LEN and AllerGen)// J. Bousquet, N. Khaltaev, A.A. Cruz [et al.]// *Allergy*. – 2008. – Vol.63. – P.8–160.
38. Characteristics of patients with allergic polysensitization: the POLISMAIL study/ G. Ciprandi, R. Alesina, R. Ariano [et al.]// *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. – 2008. – Vol. – 40. – P.77–83.
39. The type of sensitizing allergen can affect the evolution of respiratory allergy/ M. Marogna, A. Massolo, D. Berra [et al.]// *Allergy*. – 2006. – Vol.61. – P. 1209–1215.
40. *Weber R.W.* Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy/ R.W. Weber// *Ann Allergy Asthma Immunol*. – 2007. – Vol.99. – P. 203–211.
41. *Santos A.* Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens?/ A. Santos, R. Van Ree// *Int Arch Allergy Immunol*. – 2011. – Vol.155. – P.191–204.
42. *Cox L.* Comparison of allergen immunotherapy practice patterns in the United States and Europe/ L. Cox, L. Jacobsen// *Ann Allergy Asthma Immunol*. – 2009. – Vol.103. – P.451–459.
43. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update/ L. Cox, H. Nelson, R. Lockey [et al.]// *J Allergy Clin Immunol*. – 2011. – Vol.127. – P.51–55.
44. Recombinant Allergen Immunotherapy: Clinical Evidence of Efficacy—A Review/ M. Makatsori, O. Pfaar, R. Leonart, M. A. Calderon// *Curr Allergy Asthma Rep*. – 2013. – Vol. 13. – P.371–380.
45. *Oldfield W.L.* Effect of T-cell peptides derived from Fel d 1 on allergic reactions and cytokine production in patients sensitive to cats: a randomised controlled trial/ W.L. Oldfield, M. Larche, A.B. Kay// *Lancet*. – 2002. – Vol.360. – P.47–53.
46. Development and preliminary clinical evaluation of a peptide immunotherapy vaccine for cat allergy/ M. Worm, L. Hae-Hyuk, J. Kleine-Tebbe [et al.]// *J Allergy Clin Immunol*. – 2011. – Vol.127. – P.89–97.
47. Developments in allergen-specific immunotherapy: from allergen extracts to allergy vaccines bypassing allergen-specific immunoglobulin E and T cell reactivity/ M. Focke, I. Swoboda, K. Marth, R.Valenta// *Clin Exp Allergy*. – 2010. – Vol.40. – P.385–397.
48. Recombinant allergens The present and the future/ M. Jutel, K. Solarewicz-Madejek, S. Smolinska// *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2012. – Vol.8. – P.1534–1543.
49. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives/ A. Purohit, V. Niederberger, M. Kronqvist [et al.]// *Clin Exp Allergy*. – 2008. – Vol.38. – P.1514–1525.
50. *Larenas-Linnemann D.* Oralair Birch, a recombinant major birch pollen allergen tablet for sublingual immunotherapy of allergic rhinitis caused by birch pollen/ D. Larenas-Linnemann// *Curr Opin Investig Drugs*. – 2010. – Vol. 11. – P.586–596.
51. Genetic engineering of trimers of hypoallergenic fragments of the major birch pollen allergen, Bet v 1, for allergy vaccination/ S. Vrtala, M. Fohr, R. Campana// *Vaccine*. – 2011. – Vol.29. – P.2140–2148.
52. Adjuvants for immunotherapy/ O. Pfaar, D. Cazan, L. Klimek// *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. – 2012. – Vol.12. – P.648–657.
53. Development of recombinant allergens for diagnosis and therapy/ M. Egger, M. Hauser, M. Himly [et al.]// *Front Biosci (Elite Ed)*. – 2009. – Vol.1. – P.77–90.
54. *Pauli G.* The current state of recombinant allergens for immunotherapy/ G. Pauli, H.J. Malling// *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. – 2010. – Vol.10. – P.575–581.
55. Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens/ M. Jutel, L. Jaeger, R. [et al.]// *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. – 2005. – Vol.116. – P.608–613.
56. Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis/ G. Pauli, T.H. Larsen, S. Rak [et al.]// *J Allergy Clin Immunol*. – 2008. – Vol.122. – P.951–960.
57. Nomenclature and structural biology of allergens/ M.D. Chapman, A. Pomes, H. Breiteneder, F. Ferreira// *J Allergy Clin Immunol*. – 2007. – Vol.119. – P.414–420.
58. Recombinant allergens for specific immunotherapy/ O. Cromwell, D. Hafner, A. Nandy// *J Allergy Clin Immunol*. – 2011. – Vol.127. – P.865–872.
59. *Pauli G.* Allergen-specific immunotherapy with recombinant allergens/ G. Pauli, H.J. Malling// *Curr Top Microbiol Immunol*. – 2011. – Vol.352. – P.43–54.
60. The diagnosis of food allergy: protocol for a systematic review/ K. Soares-Weiser, S. S. Panesar, T. Rader [et al.]// *Clinical and Translational Allergy*. – 2013. – Vol. 3. – I.18.

61. *Steckelbroeck S.* Potential, pitfalls, and prospects of food allergy diagnostics with recombinant allergens or synthetic sequential epitopes/ *S. Steckelbroeck, B.K. Ballmer-Weber, S. Vieths*// *J Allergy Clin Immunol.* – 2008. – Vol.121. – I.6. – P.1323-1330.
62. *Hansen K.S.* Component resolved testing for allergic sensitization/*K.S. Hansen, L.K. Poulsen* // *Current Allergy and Asthma Reports.* – 2010. – Vol.10. – I.5. – P.340–348.
63. *Ebo D.G.* Component-resolved allergy diagnosis: a new era?/ *D.G. Ebo, K. Verh*// *Acad Geneesk Belg.* – 2011. – Vol.73. – P.163-179.
64. *Walsh J.* Diagnosis and assessment of food allergy in children and young people in primary care and community settings: NICE clinical guideline. CG116 Food allergy in children appendix 3 - health economics, appendix 3.1 - IgE-mediated food allergy - cost effectiveness analysis/ *J. Walsh, N. O'Flynn*// *Br J Gen Pract.* – 2011. – Vol.61. – P.473–475.
65. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms/ *G. Melioli, F. Bonifazi, S. Bonini* [et al.]// *Clin Biochem.* – 2011. – Vol.44. – I.12. – P.1005-1011.
66. Component-resolved allergy diagnosis by microarray: potential, pitfalls, and prospects/ *K.J. De Knop, C.H. Bridts, M.M. Verweij* [et al.]// *Adv Clin Chem.* – 2010. – Vol.50. – P.87-101.
67. The value of specific IgE to peanut and its component Ara h 2 in the diagnosis of peanut allergy/ *L.C. Lopes de Oliveira, M. Aderhold, M. Brill* [et al.]// *J Allergy Clin Immunol Pract.* – 2013. – Vol.1. – I.4. – P.394-398.
68. A Molecular Diagnostic Algorithm to Guide Pollen Immunotherapy in Southern Europe: Towards Component-Resolved Management of Allergic Diseases/*N. Douladiris, S. Sawatianos, I. Roumpedaki* [et al.]// *Int Arch Allergy Immunol.* – 2013. – Vol.162. – P.163–172.
69. ОпытразработкиИФАтест-системдляопределения специфического IgE к различным аллергенам/ *А.С. Прилуцкий, Л.В. Кузнецова, Д.А. Лесниченко и др.*// *Лабораторна діагностика.* – 2013. – №2(64). – С.32-35.
70. Перечень аллергенов, к которым возможно определение аллергии [Электронный ресурс] / ООО «Укрмед-Дон»// Режим доступа к сайту: <http://ukrmed.dn.ua>.

## SUMMARY

### MOLECULAR-BASED DEFINITION OF SENSITIZATION AND RESULT'S USEFULNESS IN ALLERGOLOGY

*Prilutskiy A.S., Tkachenko K.E.*

We circumstantially selected and analyzed the papers of recent years on issues of molecular allergology. World Allergy Organization consensus document of the 2013 year on molecular-based allergy diagnostics was taken as a basis. We examined modern approaches to molecular-based allergy diagnostics for clinicians trained in allergology and tried to find the most rational of them in science and practice.

## РЕЗЮМЕ

### ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО ОКРЕМИХ МОЛЕКУЛ І ВИКОРИСТАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДАНИХ ТЕСТІВ У АЛЕРГОЛОГІЇ

*Прилуцький О.С., Ткаченко К.Є.*

Нами відібрані і ретельно проаналізовані праці останніх років, присвячені питанням молекулярної алергології. За основу взято документ консенсусу 2013 року, проведеного *World Allergy Organization* з питань молекулярної діагностики алергії. Ми розглянули існуючі на даний момент часу підходи до використання молекулярних методів в алергології, та спробували визначити найбільш раціональні з них у науці та практиці.