

П.М. Чорнобривий, Н.Ф. Маковей,
Л.С. Шевчишина

РОЛЬ СПЕЦИФІЧНИХ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ПРИ ДІАГНОСТИЦІ IgE АЛЕРГІЧНИХ СТАНІВ

Хмельницька обласна лікарня

Діагностика алергічних захворювань є складним процесом, що включає в себе анамнез, фізичне обстеження, методи дослідження *in vivo* та *in vitro*. Алергічні реакції можуть проходити в різних органах і в різних вікових групах. Обов'язковою умовою алергічних проявів є задіяння імунологічних механізмів, що відрізняє алергії від інших побічних реакцій на продукти харчування і медикаменти. В даній статті мова піде про діагностику алергічних станів *in vitro*.

Для алергій характерні атопічні прояви — індивідуальна або сімейна схильність організму виробляти IgE-антитіла у відповідь на невелику кількість алергенів, як правило, білків, що проявляється типовими симптомами: астми, кон'юктивіти, екземи або дерматиту [2]. Термін “Атопія” описує дану клінічну схильність до алергії. А власне сама алергія — це реакція гіперчутливості, яка викликається шляхом включення імунологічних механізмів [7]. У більшості пацієнтів антитіла, які відповідають за алергічні прояви, — це антитіла типу IgE, тому в таких випадках мова йде про IgE-залежну алергію.

Встановлення етіології алергічного захворювання, як відомо, складається із виявлення конкретних причин — алергенів, що викликають розвиток симптомів хвороби. Алерген — це складна речовина, що має критичну молекулярну масу, імунна відповідь на яку реалізується сенсibilізацією чи алергічною реакцією [6].

Лабораторна діагностика алергічних захворювань повинна допомогти клініцисту в установленні етіології захворювання, його патогенетичної характеристики, включаючи характер і ступінь порушення імунної та інших систем організму. Тому основним завданнями лабораторної діагностики алергічного захворювання є:

- встановлення факту сенсibilізації до алергенів (специфічна алергодіагностика);
- визначення типу (типів) алергічної реакції (специфічна алергодіагностика);

- виявлення характеру і ступеню імунних порушень (імунодіагностика);
- характеристика патогенетичних змін, типових для даного алергічного захворювання (клінічна лабораторна діагностика) [1].

Перед тим, як визначити конкретний лабораторний метод специфічної алергологічної діагностики, необхідно виявити особливості імунологічного механізму реалізації алергічної реакції у пацієнта. З цією метою лікар-алерголог аналізує анамнез, клінічні прояви захворювання в минулому і на тепер, щоб визначити коло алергенів і тип імунологічних реакцій. Щодо специфічних методів, то найбільш часто в клінічній практиці використовується дослідження рівнів запального і алерген специфічного IgE. IgE синтезується плазматичними клітинами і знаходиться в нормі в незначній кількості в сироватці крові і секретах організму. При з'єднанні молекул IgE, зв'язаних з поверхнею тучних клітин і базофілів з антигеном, проходить грануляція з викидом медіаторів запалення і розвитком реакції гіперчутливості. Сенсibilізація тим чи іншим алергеном призводить до виникнення специфічних IgE [5].

В подальшому мова піде тільки про IgE-залежну алергію, оскільки розроблені на сьогоднішній день лабораторні тести призначені для обліку алерген-специфічних IgE. “Золотим стандартом” у визначенні специфічного IgE є RAST-метод (радіоалергосорбентний тест) [3]. Проте ця методика дорого коштує, та й не кожна клініка може працювати з радіоактивними ізотопами. Результати, які можна співвідносити з RAST-методом, також отримують за допомогою імунохемілюмінесцентного методу. [9]. Дані методи дозволяють точно вимірювати концентрацію специфічного IgE, встановити з найбільшою достовірністю вид алергена, що викликає захворювання.

По шляху проникнення алергени розділяють на:

- пневмоалергени (пилок, що знаходиться в повітрі; спори алергенних грибків; домашній пил; шерсть і епідерміс тварин).
- харчові алергени (яєчний білок, коров'яче молоко, полуниця, цитрусові і т.д).
- інсектні алергени (тіло і яд комах).
- алергени ліків;
- хімічні алергени (професійні і непрофесійні) [8].

Існують скринінг-тести, які допомагають диференціювати атопічні захворювання від не-

атопічних порушень. Після встановлення анамнезу і проведення фізикального обстеження необхідне проведення теста — першого етапу лабораторної діагностики, який надає інформацію про наявність atopічного статусу хворого. Позитивний результат свідчить про наявність atopії. В такому випадку хворому рекомендують проведення більш специфічних аналізів для уточнення етіологічного агента (імунохемілюмінесценція, RASt-метод).

Мета публікації — показати перевагу скринінгового методу визначення алергенів над іншими.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

За період з липня 2010 року по липень 2011 року на базі клініко-діагностичної лабораторії Хмельницької обласної лікарні продіагностовано 265 пацієнтів, проведено аналіз 65 панелей з харчовими алергенами та 217 панелей з інгаляційними алергенами. Матеріал, що досліджувався, це — сироватка крові, отримана шляхом центрифугування при 15000 об./хв протягом 15 хв. З перефіричної крові, взятої натще в день проведення обстеження. Кров забиралася від осіб чоловічої статі — 127 та жіночої — 138, віком від 4 до 54 років.

Визначення вмісту алерген-специфічних IgE в сироватці крові проводили за допомогою імуноферментного дослідження касетного формату фірми “Bio-check” (Німеччина) з використанням планшетного сканеру. Планшетка складається з 20 (або 10) ліній харчових чи респіраторних алергенів і 5 ліній калібрівки. Під час інкубації сироватки пацієнта, алерген-специфічні IgE зв’язуються з відповідними алергенами. Незв’язані компоненти сироватки крові вилучаються шляхом промивання. Моноклональні антитіла до IgE, мічені лігандами, зв’язуються з IgE, які в свою чергу зв’язані з алергенами.

Вільні антитіла вилучаються шляхом промивання. Мічені ферментативно антитіла до лігандів зв’язуються з імунокомплексом, надлишок ферментного кон’югата вилучається шляхом промивання. Потім вноситься субстрат і специфічно зв’язані ферменти фарбують прозорий субстрат в темний колір. Інтенсивність фарбування ліній пропорційна концентрації відповідного специфічного IgE в сироватці крові пацієнта.

Програмний пакет Biocheck imaging Software (Bis), встановлений на персональному комп’ютері, дозволяє провести інтерпретацію отриманих

результатів. Кожний алерген ідентифікується і у відповідності до кривої калібрівки для кожного стрипу вираховується концентрація кожного алерген-специфічного IgE.

В наведеній нижче таблиці перелічені категорії алергенів, для яких проводились визначення специфічних IgE.

Таблиця 1

Категорії алергенів для визначення специфічних IgE реагентами “Biocheck”

Алергопанель	Склад
Інгаляційна панель	Пилок рослин (береза, вільха, дуб, лугова тимофіївка, жито, полин), кліщі <i>Dermato-Phagoides pteronyssinus</i> , <i>Dermato phagoides farinae</i> , епідерміс собаки, kota, коня, морської свинки, хом’яка, кролика, грибки роду <i>Penicil notatum</i> . <i>Cladosporium herbarum</i> . <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria tenuis</i>
Харчова панель	Лісовий горіх, арахіс, грецький горіх, мигдаль, молоко, білок курячого яйця, жовток курячого яйця, казеїн, картопля, пастернак, морква, помідори, тріска, креветки, персик, яблуко, соя, пшеничне борошно, кунжут.

За допомогою програмного забезпечення вальдуються калібрувальні криві, співставляються відповідний алерген і позиція лінії, що сканується. Таким чином вичислюється концентрація специфічних IgE для кожного алергена. Для кожної сироватки документується протокол з переліком досліджених алергенів і концентрацій специфічних IgE. Кількісні вимірювання представлені в міжнародних одиницях (KLL, IgE/L). Класифікація концентрацій і відповідна інтерпретація наведені нижче:

Таблиця 2

Класифікація концентрацій специфічних IgE

IgE (Ku/L)	Клас	Інтерпретація
≤0,35	0	Специфічні антитіла відсутні
0,35–0,7	1	Дуже низький титр антитіл, часто без клінічних проявів алергії
0,7–3,5	2	Низький титр антитіл, часті клінічні симптоми
3,5–17,5	3	Явно виражений титр антитіл, клінічні симптоми як правило присутні
17,5–50	4	Високий титр антитіл, майже завжди з перебігом алергічних реакцій
50–100	5	Дуже високий титр специфічних антитіл
≥100	6	Екстремально високий титр

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз харчових панелей показав, що реактивність на будь-який алерген відсутня у 30 хворих. По кількості виявлених випадків перше місце займає сенсibiлізація до коров'ячого молока (15 хворих), за яким іде сенсibiлізація до алергенів арахісу (12 хворих) та білка яєць. У пацієнтів з алергією на рибу визначився високий рівень специфічних IgE (2 хворих). Було відмічено також перехресну реакцію при дослідженні харчової і інгаляційної панелі у хворого з ураженням ротової порожнини. В нього був наявно високий ступінь IgE до лісових горіхів та до пилку берези. Це пояснюється наявністю профіліну в складі лісових горіхів, що й обумовлює перехресну реакцію з пилком берези. [4].

Серед 217 продіагностованих інгаляційних панелей реактивність на будь-який алерген відсутня у 44 пацієнтів. Низька та помірна реактивність спостерігалась на пилок дерев (19 панелей) та шерсть і епідерміс тварин (собаки — 38 панелей, кота — 31 панель, хом'яка — 14 панелей, кролика — 5 панелей). Висока реактивність відмічена на пилок трав (тимофіївка — 28 панелей, жито — 29 панелей, полин — 31 панель). Висока та дуже висока реактивність була до кліщів *Dermatophagoides pteronyssinus* — 104 панелі та *Derm Farinae* — 83 панелі.

Окрім вищезгаданого, в окрему групу можна виділити хворих з високим рівнем специфічного IgE до алергенів — грибків: *Aspergillus fumigatus* — 6 пацієнтів; *Cladosporium herbarum* — 1 пацієнт; *Penicillini notatum* — 6 пацієнтів; *Alternaria tenuis* — 4 пацієнта. У всіх 17 пацієнтів спостерігались схожі клінічні симптоми:

- приступи астми щоденно (II–III ступінь) у 14 пацієнтів;
- малопродуктивний кашель у 13 пацієнтів;
- кашель продуктивний з відходженням скудної, густої мокроти у 4 пацієнтів;
- порушення носового дихання у 12 пацієнтів;
- анемія у 6 пацієнтів;
- поліноз носу — у 7 пацієнтів;
- задишка в спокої у 4 пацієнтів;
- задишка при напрузі у 13 пацієнтів;
- виражена загальна слабкість у 14 пацієнтів.

Серед даних пацієнтів астма в анамнезі спостерігалась більше 5 років у 4 пацієнтів, більше 10 років у 6 хворих, більше 20 років у 7 хворих.

При проведенні інспекції в помешканнях, де проживають хворі, знайдено ділянки, ура-

жені цвілью в 14 із 17 пацієнтів. Крім того, 8 хворих відмічали проживання в помешканнях з цвілью в минулому. Всі дослідження хворим проведено у весняно-літній період, оскільки розповсюдженість спорів алергенних грибків взимку знижена, а підвищення температури, потоків повітря, збільшення кількості опадів, а особливо живильного субстрата для грибків, відіграють важливу роль в їх розповсюдженні та розмноженні в теплий період року.

Хворим з високим рівнем реактивності до грибків призначалося лікування “Ітраконазолом” виробництва “Фармак” Україна в дозуванні 100 мг двічі на добу протягом місяця. По-кращення загального стану та зникнення деяких клінічних симптомів розподілилось таким чином:

- скоротились щоденні приступи астми у 10 пацієнтів;
- зникла виражена слабкість у 13 пацієнтів;
- відновився нюх у 4 хворих;
- зменшились напади кашлю у 9 хворих.

Після проведеного лікування здійснено повторне обстеження у 15 хворих і відмічено зниження специфічного IgE з 5 класу до 2 класу у 4 хворих, та з 6 до 3 класу у 3 хворих (рис.). Не змінився 4-й рівень IgE у 8 хворих, оскільки не існує прямої залежності між значеннями специфічного IgE та важкістю клінічних симптомів. Отримані результати інтерпретуються клініцистами лише в контексті клінічних даних хворого.

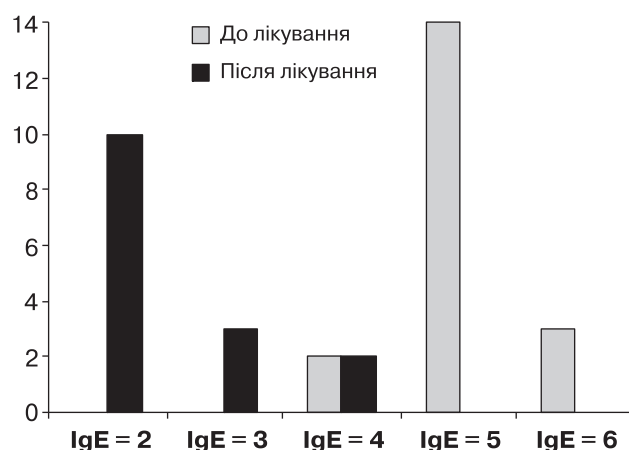


Рис. Концентрація IgE у хворих до і після лікування

ВИСНОВКИ

Переваги методу скринінг-тесту над іншими методами діагностики алергічних захворювань полягають у такому:

- немає негативного впливу на пацієнта;
- відсутність протипоказань;
- можливість проведення досліджень в будь-якому, в тому числі ранньому дитячому віці, в період загострення, при високому ступені сенсибілізації;
- виявлення реакції на велику кількість алергенів під час лише одного дослідження;
- відсутність впливу зміненої реактивності шкіри;
- дослідження можливе на фоні лікування.

Зауважимо, що показники, які виявляються за допомогою скринінг-тесту не є безперечним доказом наявності у хворого алергічного захворювання. Ведуча роль в діагностиці алергії належить алергологічному анамнезу і клінічним проявам захворювання. Разом з тим, методи лабораторної діагностики в багатьох випадках дозволяють уточнити діагноз та диференціювати алергію.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Алергические болезни: диагностика и лечение: пер. с англ. / Под ред. И.С. Гущина, А.Г. Чугалина, Э.Г. Улумбекова, Р.С. Фассахова. — М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. — 768 с.*
2. *Драник Г.И. Клиническая иммунология и аллергология. — М: ООО "Медицинское информационное агентство", 2003. — 604 с.*
3. *Інструкція до набору "Bio-check" Німеччина. — 5 с.*
4. *Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. А.В. Караумова — М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2002. — 651 с.*
5. *Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Лопора-младшего, Т. Фимера и Д. Адельмана. Пер. с англ. — М.: Практика, 2000. — 806 с.*

6. *Новые определения некоторых ключевых терминов аллергологии // Аллергология. — Санкт-Петербург, 2005. — № 3. — С. 576.*
7. *Общая аллергология, Т. 1 / Под ред. Г.Б. Федосеева. — Санкт-Петербург: "Нормед-Издат", 2001. — 816 с.*
8. *Ривкин В.Л. Медицинский толковый словарь. — М.: "Медпрактика-М", 2002. — 236 с.*
9. *Фрадкин В.А. Диагностические и лечебные аллергены. — М.: Медицина, 1990. — 256 с.*
10. *Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. — М.: Медицина, 2000. — 432 с.*
11. *<http://immunifo.ru/> — Иммунологические исследования in vitro.*

РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ IgE АЛЛЕРГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

П.М. Чернобровый, Н.Ф. Маковой, Л.С. Шевчишина

Метод твердофазного иммуоферментного анализа кассетного формата выявляет количественное содержание алерго-специфических IgE к большому количеству алергенов одновременно. Такая алергодиагностика *in vitro* позволяет правильно назначить элиминационные мероприятия и медикаментозную терапию для пациентов, безопасна для организма и может проводиться в период обострения.

ROLE OF SPECIFIC IMMUNOGLOBULINS AT DIAGNOSING IgE ALLERGIC STATES

P.M. Chornobrovyy, N.F. Makovey, L.S. Shevchyshyna

The method of the solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) within the cassette's format defines the quantitative of specific allergic antibodies-immunoglobulins E (Ige) for the big amount of the allergens simultaneously. This *in-vitro* method of allergy diagnosing helps to prescribe the eliminative measure and medicamentous therapy for the patients correctly. Safe for the organism and can be put into practice during the exacerbation.