

**Buzzulini Francesca<sup>1</sup>, Da Re Mirella<sup>1</sup>, Scala Enrico<sup>3</sup>, Martelli Paola<sup>1</sup>,  
Conte Mariaelisabetta<sup>1</sup>, Brusca Ignazio<sup>2</sup>, Villalta Danilo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Allergy and Immunology Unit, Santa Maria degli Angeli Hospital, Pordenone, Italy

<sup>2</sup> Laboratory Medicine Unity of Buccheri, la Ferla Hospital, Palermo, Italy

<sup>3</sup> IDI-IRCCS Istituto Dermatologico dell'Immacolata, Rome, Italy

## Оцінка нового мультиплексного аналізу для діагностики алергії

За останні роки в алергології відбулись, без перебільшення, революційні зрушення, вони стосуються насамперед нових методів діагностики, а саме молекулярної алергодіагностики, яка стрімко увійшла в повсякденну практику лікаря-алерголога, змінюючи парадигму розуміння причини розвитку тої чи тої алергічної патології і надаючи більш таргетні дані щодо лікувальних та елімінаційних заходів. Водночас відбувається певна еволюція самих методів молекулярної алергодіагностики, щороку відкривають нові молекули алергенів, які з часом з'являються в оновлюваних системах діагностики.

Багатокомпонентний тест-аналізатор нового покоління ALEX (Allergy Explorer) з'явився на ринку відносно нещодавно, але вже встиг здобути прихильність як практикуючих лікарів, так і науковців світового рівня. Велика кількість досліджень ALEX була зроблена в Україні і на загал вже представлені перші результати щодо ефективності, специфічності та чутливості методу. Як будь-який новий метод у медицині, ALEX-тест активно вивчається, й доказова база щодо нього тільки накопичується, але має велике значення, щоб дослідження були якісними, виконані авторитетними вченими й опубліковані в авторитетних наукових виданнях.

Пропонуємо до вашої уваги переклад одного з таких досліджень, яке вийшло у 2019 р. в рамках журналу *Clinica Chimica Acta* видавничої компанії Elsevier.

**Н**а сучасному етапі молекулярна алергодіагностика (МАД) значно покращила якість діагностики алергії, надаючи можливість відрізнити справжню сенсibilізацію від перехресних реакцій, з важливим каскадом даних щодо вибору причинно-значущих алергенів для проведення алерген-специфічної імунотерапії, а також прогнозу ризику розвитку серйозних алергічних реакцій у разі харчової алергії [1, 2]. Проте, щоб повністю реалізувати цей потенціал, він має бути імplementований в рамках чіткої діагностичної платформи і заснований на достатньому рівні знань методів діагностики.

На сьогодні тестування МАД може проводитися за допомогою моно- або мультиплексного аналізу. Дотепер моноплексні аналізи були методом вибору в разі традиційного підходу до діагностики – «зверху вниз», це перший етап (перший рівень) діагностики алергії, в рамках якого лікар-алерголог, переходячи від історії хвороби, фізикальних даних до шкірного прик-тесту (ШПТ)/або визначення рівня IgE до екстрактів, обирає, які молекули мають бути протестовані,

грунтуючись на даних анамнезу. Моноплексні системи МАД видають кількісний результат, є високоавтоматизованими (з можливістю дозування як екстрактів, так і молекул), економічно ефективними, якщо їх проводити за надійним діагностичним алгоритмом. З іншого боку, деякі види сенсibilізації можуть бути пропущені або недооцінені.

Мультиплексний аналіз, зі свого боку, пропонує ширше бачення профілю сенсibilізації пацієнта. Він застосовується, коли необхідно протестувати > 12–13 молекул (з клінічними та економічними перевагами) або в педіатричній категорії пацієнтів через невелику кількість необхідної сироватки. Мультиплексні системи є методом вибору в разі підходу «знизу вгору» – для тих клініцистів, які вирішують перейти від широкого лабораторного тестування до клінічного, а також у всіх тих клінічних випадках, які потребують після першого підходу «зверху вниз» розширити панель тестованих молекул («U-подібний підхід») [3].

Однак доступні мультиплексні аналізи є напівкількісними й менш чутливими, ніж моноплексні. Перший

доступний на ринку мультиплексний аналіз, що його використовують в даний час, є мікрочіп (ISAC<sup>®</sup>, Thermo Fisher, Швеція), який дає змогу тестувати 112 різних молекул, як рекомбінантних, так і нативних, з невеликою кількістю сироватки (30 мкл) [4, 5].

Нещодавно був розроблений ще один макрочіп (Allergy Explorer-ALEX<sup>®</sup>, Macro-ArrayDX Відень, Австрія). Він містить 157 екстрактів алергенів і 125 молекулярних компонентів і, напевне, має найширший нині набір алергенів. Крім того, основний аналіз IgE до екстрактів алергенів у одному тесті дає змогу оцінити рівень IgE до відповідних специфічних і перехресно-реактивних компонентів. Нарешті, пригнічення перехресно-реактивних вуглеводних детермінант (cross-reactive carbohydrate determinants, CCD) додатково покращує специфічність IgE-аналізу.

**Метою даного дослідження** було представити аналітичні дані щодо ефективності нового методу алергодіагностики ALEX<sup>®</sup> в обраній популяції, порівнюючи його з ImmunoCAP<sup>®</sup> (Термо Фішер, Швеція). Два методи порівнювали на якісному та кількісному рівні. Також порівнювали кожен окремих метод з ШПТ з точки зору якісних результатів.

## Матеріали та методи дослідження

Загалом було проведено тестування 120 сироваток, отриманих з двох центрів в Італії. Середній вік досліджуваної популяції становив 29 років (від 3 до 69): 58 чоловіків і 62 жінки. В даній популяції 56 пацієнтів страждали на респіраторну алергію і 49 – на харчову. У підгрупі респіраторної алергії в 48 осіб було виявлено риніт: у 6 – легкий інтермітуючий (12%), 2 – легкий персистуючий (4%), 5 – середньотяжкий інтермітуючий (10%) і в 35 – середньої тяжкості персистуючий (70%). 14 пацієнтів страждали на алергічну астму. В популяції харчової алергії – 30 осіб з LTP-синдромом: 5 (16,7%) – з легкими симптомами, 17 (56,6%) – з помірними і 8 (26,7%) – з тяжкими симптомами, а також 19 – з алергією на волоський горіх/фундук: 5 (26,3%) пацієнтів – з легкими симптомами, 12 (63,1%) – з помірними і 2 (10,6%) – з тяжкими.

Сироватки досліджували за допомогою ALEX<sup>®</sup>, і результати порівнювали з даними, отриманими в моноплексному IgE-тесті ImmunoCAP<sup>®</sup> та ШПТ (ALK Abello для персика і Stallergens для всіх інших екстрактів), що проводилися раніше за клінічними показаннями відповідно до традиційних методів діагностики «зверху вниз». Рішення порівняти ALEX<sup>®</sup> з ImmunoCAP<sup>®</sup> виникло через необхідність поглянути на ефективність ALEX<sup>®</sup> як з точки зору якісних і кількісних результатів, так і для оцінки діагностики екстрактів і молекул.

У ALEX<sup>®</sup> різні алергени й компоненти наносять на нітроцелюлозну мембрану в чіпі картриджа, який потім інкубують з 0,5 мл 1:5 розведення сироватки при перемішуванні. Примітно, що сироватковий розчинник містить інгібітор CCD; дотримуючись цієї процедури без додаткової попередньої інкубації, виробник гарантує інгібування CCD на рівні 85%. Після двогодинної інкубації чіпи ретельно промивають, додають попередньо приготоване розведення людського IgE, міченого лужною фосфатазою, і інкубують упродовж 30 хв. Після чергового циклу інтенсивної промивки додають ферментний субстрат, і через 8 хв реакція завершується.

Мембрани сушать, і інтенсивність колірної реакції для кожної плями алергену вимірюють за допомогою пари заряджених пристроїв камери.

Спеціальне програмне забезпечення оцифровує зображення і готує звіт, в якому перераховані алергени і компоненти, а також їхня оцінка в kUA/ml. Також вимірюється рівень загального IgE. Нарешті, виходить довільна калібрувальна крива внаслідок взаємодії чотирьох плям зі зменшенням концентрації специфічного IgE, що відповідає < 0,35 kUA/L, 0,35–1 kUA/L, 1–5 kUA/L, 5–15 kUA/L і > 15 kUA/L [6]. Ми вважали позитивною концентрацію  $\geq 0,35$  kUA/L як для ImmunoCAP<sup>®</sup>, так і для ALEX<sup>®</sup>.

## Результати та їх обговорення

Наше дослідження вивчало ефективність нового мультиплексного аналізу ALEX<sup>®</sup> для виявлення антитіл IgE до пилку, пилових кліщів, екстрактів і молекул харчових алергенів. Було проведено якісний і кількісний аналіз з порівнянням ALEX<sup>®</sup> з моноплексним тестом ImmunoCAP<sup>®</sup>.

### Аналіз екстрактів і молекул пилку

Аналіз екстрактів пилку показав істотну відповідність зі значенням  $k > 0,81$  в 3/10 екстрактів; найменша відповідність спостерігалась щодо кипарису ( $k = 0$ ), полину ( $k = 0,26$ ) і амброзії ( $k = 0,16$ ). Було виявлено, що ImmunoCAP<sup>®</sup> часто є позитивним, тоді як ALEX<sup>®</sup> лишається негативним. Щоб вивчити клінічну значимість таких результатів, ми проаналізували клінічні дані. У полісенсібілізованих пацієнтів ідентифікація клінічно значущого алергену часто є складним завданням, проте в досліджуваній популяції пацієнти використовували монітор алергії App для повідомлення про свої симптоми, що дає можливість зіставити оцінки симптомів з кількістю пилку. Аналіз, проведений для амброзії та кипарису, двох алергенів з суттєвими розбіжностями, виявив клінічну значимість результатів ImmunoCAP<sup>®</sup> у 3/12 (25%) пацієнтів для амброзії і 3/14 (21,4%) – для кипарису.

При порівнянні результатів, отриманих для IgE безпосередньо з молекулярними компонентами, загальна відповідність була майже ідеальною ( $k = 0,92$ ), причому найнижча ефективність спостерігалась для Amb a 1 (основний детермінант амброзії).

Для всіх інших молекул результати демонструють хорошу відповідність між різними молекулами ( $k$  в діапазоні від 0,87 до 1). Молекулярний компонент пилку кипарису (Cup a 1) і молекулярний компонент полину (Art v 1) показали майже ідеальну відповідність, що дає змогу ідентифікувати пацієнтів, сенсібілізованих до кипарису й полину, що їх було «пропущено» під час визначення екстракту.

В результаті комбінованого аналізу екстрактів і молекулярних компонентів ми виявили деякі невідповідності. Всебічний аналіз виявив, що в 3 випадках (2 для полину і 1 для екстракту оливи) наявність CCD могла призвести до хибнопозитивних результатів в екстрактах ImmunoCAP<sup>®</sup>, тому під час тестування екстрактів пилку ImmunoCAP<sup>®</sup> часто є позитивним, тоді як ALEX<sup>®</sup> лишається негативним. У двох пацієнтів аналіз показав відсутність кореляції між визначенням екстракту амброзії та її молекулярного компонента. Так, амброзія і Amb a 1 був позитивний

в ImmunoCAP® і негативний в ALEX®; не можна виключати, що в цих випадках CCD може зіграти свою роль, оскільки Amb a 1 є нативним в ImmunoCAP® і рекомбінантним в ALEX®.

Крім того, за даними Nemmer і співавт., целюлоза, яка використовується як носій твердої фази алергену в ImmunoCAP®, містить різну кількість CCD, достатню для того, щоб спричинити хибнопозитивні результати тесту з неглікозильованими рекомбінантними алергенами в пацієнтів з високим рівнем антитіл проти CCD IgE.

#### Аналіз харчових алергенів

В обох популяціях, як і очікувалося, екстракти показали меншу відповідність у порівнянні з молекулами. З точки зору молекулярних компонентів відповідність була близькою до ідеальної для Pru r 3 і помірною для Ara h 9; проте в останньому випадку, коли ALEX® показав негативні результати, ImmunoCAP® був позитивним при низьких титрах (<1 kUA/L).

Аналіз, що його було проведено серед популяції, сенсibilізованої до волоського горіха/фундука, продемонстрував майже ідеальну відповідність щодо LTP (Cоg a 8); серед сімейства запасних білків хороший рівень відповідності спостерігався тільки для Cоg a 9 (глобулін 11S), а не для Cоg a 14 (альбумін 2S), причому 6 пацієнтів мали негативний результат згідно з ALEX® і позитивний при високих титрах на ImmunoCAP® (> 1 kUA/L) для Cоg a 14. Слід підкреслити, що Cоg a 14 є нативним в ALEX® і рекомбінантним в ImmunoCAP®. Більша чутливість ImmunoCAP® щодо виявлення алергії на горіхи була недавно продемонстрована також у порівнянні з мультиплексним методом, що використовується нині (ISAC®) [9].

#### ШПТ проти ImmunoCAP® і ALEX®

Відповідність ImmunoCAP® і ALEX® з ШПТ була відзначена як істотна для обох методів. Варто відзначити, що і ImmunoCAP®, і ALEX® представляють відповідність з ШПТ, яка є далекою від хорошої. В контексті дебатів між шкірним тестуванням і дослідженням *in vitro* [10, 11] ці дані викликають стурбованість з приводу чутливості та складу ШПТ і їх позиціонування як першого кроку в алгоритмі діагностики. Літературні дані свідчать, що чутливість ШПТ становить 70–95% і специфічність 80–97% для інгаляційних алергенів, що є гарантією підвищення чутливості ШПТ до 97–99%. Ефективність для харчових алергенів нижча з чутливістю і специфічністю 30–90% і 20–60% відповідно в залежності від алергену і типу підходу (екстракт проти прик-тестування) [12, 13].

Однак питання стандартизації мінорних і мажорних алергенних детермінант, сталість складу від партії до партії та інші обмеження методу все ще обумовлюють упередження щодо інтерпретації результатів ШПТ [13–16]. У зв'язку з цим імплементація мультиплексного аналізу (що містить як екстракти, так і молекули) заслуговує, принаймні, серйозного розгляду як методу діагностики першої лінії, зокрема в разі тестування з низьким вмістом алергенів (екстракти для ШПТ) або слабкою стабільністю [11]. Проте під час інтерпретації даних важливо пам'ятати, що, незалежно від методу діагностики, демонстрація паттерну IgE-сенсibilізації є тільки доказом сенсibilізації, і тільки кореляція даних

з анамнезом захворювання і клінічними симптомами є важливою.

#### Висновки

Дане дослідження, наскільки відомо авторам, є першим повідомленням про пряме порівняння мультиплексного дослідження ALEX® і моноплексного тесту ImmunoCAP®.

Результати дослідження продемонстрували істотну відповідність між цими двома методами з трохи меншою відповідністю щодо виявлення IgE для екстрактів, ніж для молекулярних компонентів, як для інгаляційних, так і для харчових алергенів. ALEX®, виконуючи кількісний аналіз, долає одне з основних обмежень мультиплексних аналізів. Технічні особливості даного методу здатні потенційно знизити витрати в порівнянні з мультиплексними аналізами першого покоління. З точки зору виконання, ALEX® підсилює всі переваги технології мультиплексного аналізу. Він являє собою простий у застосуванні метод з чітким визначенням факторів, які можуть вплинути на остаточний результат. Для тестування ALEX® потрібно лише одне визначення кожного алергену, а не потрібне, як у ISAC®, до того ж результати ImmunoCAP® потребують суттєвого узгодження даних.

Тим не менш, значення ALEX® в рутинних клінічних умовах потребує підтвердження. Зокрема, наступні дослідження мають зосереджуватись на оптимізації деяких реагентів, аналітичної чутливості, а також діагностичної чутливості й специфічності.

Як вже було зазначено, обмеження розміру вибірки могло вплинути на відповідність, особливо під час оцінки одного екстракту/молекулярного компоненту. Крім того, слід мати на увазі, що імунна відповідь людини, опосередкована IgE, є поліклональною і схильною до впливу генетики. Екстракти алергенів можуть бути гетерогенними, їх складно стандартизувати на хорошому молекулярному рівні, і, як підкреслює Мюллер [19], рекомбінантні молекули можуть демонструвати непередбачувану поведінку.

Наявність як екстрактів, так і молекулярних компонентів має полегшувати і, можливо, прискорювати отримання аналітичних показників, однак перш ніж використовувати ALEX® як еталонний метод у підході «знизу вгору», необхідно підтвердити дані в широкому масштабі та інтерпретувати їх у світлі клінічних даних.

У будь-якому випадку, наявність нового мультиплексного тесту, заснованого на достовірних наукових даних, стимулює дослідження в галузі молекулярної алергії.

Список літератури – у редакції.

Реферативний огляд *stammi Buzzulini F. et al. «Evaluation of a new multiplex assay for allergy diagnosis», Clinica Chimica Acta 493 (2019), 73–78, підготувала Марія Капустина та Анна Артюх.*

Повну версію дивіться на сайті:  
<https://www.sciencedirect.com>

®



# АЛЕРГОЛОГІЧНИЙ ПАСПОРТ ПАЦІЄНТА

# 99%

ВСІХ ВІДОМИХ АЛЕРГЕНІВ

ОТРУТА КОМАХ

ПИЛОК ТРАВ

АЛЕРГІЯ НА ТВАРИН

ЦВІЛЬ

ФРУКТИ

яйця

ПИЛОК БУР'ЯНІВ

СПЕЦІЇ

МОЛОКО

МОРЕПРОДУКТИ

ПИЛОК ДЕРЕВ

ЛАТЕКС

М'ЯСО

КЛІЩІ

НАСІННЯ

ОВОЧІ



# ALEX

ALLERGY EXPLORER

# Мультикомпонентна діагностика в клінічній практиці

2–3 квітня 2019 р. у місті Дніпро відбулась науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні питання алергології». В рамках конференції були представлені доповіді як вітчизняних, так і зарубіжних фахівців, які на прикладах власного клінічного досвіду продемонстрували ефективність, інформативність і переваги мультикомпонентних методів діагностики, а саме ALEX® (Allergy Explorer), який за рік існування на ринку України здобув прихильність як практикуючих алергологів, так і пацієнтів, а також сприяв більш об'єктивній картині вивчення сенсibilізації.

Розпочав секцію, присвячену методам молекулярної алергодіагностики (МАД), один із засновників молекулярної алергології в Європі, керівник великої амбулаторної клініки алергології, яка приймає за рік близько 60 тис. пацієнтів, член дослідницької групи у м. Грац, яка займається проблемою сенсibilізації до отрут перетинчастокрилих і питаннями молекулярної алергології, професор **Гюнтер Штурм** (м. Відень, Австрія).



Гюнтер Штурм

На початку своєї доповіді спікер зауважив, що за мікрочіповими тестами – майбутнє, але шкірні прик-тести також ще мають місце у діагностиці алергологічних захворювань, а саме харчової алергії, зокрема метод подвійного прик-тесту (prick-to-prick), який виконують зі свіжими фруктами та овочами. Також шкірні тести можуть застосовуватись, коли за даними анамнезу

не очікується полісенсibilізація або в арсеналі існуючих методів МАД просто немає потрібного алергену. Але, якщо говорити про крос-реактивність, то набагато більшу інформацію щодо причиннозначущих алергенів, гіперчутливості до паналергенів, перехресної алергії дають можливість отримати тільки методи МАД.

На сьогодні існують наступні методи МАД: одноплексні тести та мультиплексні (ImmunoCAP ISAC112, Faber 244 та найновіший з них – MADx ALEX 282). Одноплексні тести – «один тест – один алерген» – мають певні обмеження: є досить

дороговартісними, не надають повної інформації щодо сенсibilізації, оскільки не виключають, наприклад, перехресної сенсibilізації тощо.

Нове покоління тестів МАД – це мультиплексні тести. Піонером свого часу був ISAC, але зараз існує прогресивніший мультиплексний метод – ALEX® (Allergy Explorer), в рамках якого доступна діагностика на 282 алергени, а людина, яка розробила ALEX® – Крістіан Харванегг, – свого часу був розробником ImmunoCAP ISAC, тобто можна вважати, що метод ALEX® – це наступне покоління МАД.

Основний принцип МАД полягає в тому, що існуючі молекулярні екстракти, до складу яких входить декілька алергенів, можна розкласти на ці окремі алергени і виключити перехресну сенсibilізацію, а отже отримати вичерпну картину сенсibilізації, яка допоможе сформулювати рекомендації щодо лікування та елімінаційних заходів. Важливо розуміти і вміти читати номенклатуру в молекулярній алергології. На прикладі rAra h 2: перша літера – метод продукції алергену (r – рекомбінантний (найточніші), s – синтетичний, n – натуральний); наступні три – літери роду та перша літера – виду на латині (*Arachis hipotega*); остання цифра – час ідентифікації алергену.

Надзвичайно важливим у МАД є можливість виявлення паналергенів (алергенні білки, що спричинюють велику кількість перехресних реакцій): профілінів (Bet v 2, Phl p 12) – сенсibilізація до більшої частини пилку та продуктів харчування; полькальцинів (Bet v 4, Phl p 7) – сенсibilізація до більшої частини пилку; молекули перехресно реактивних карбогідратних детермінант – CCD (Cross-reactive carbohydrate determinants) – сенсibilізація до більшої частини пилку та продуктів

харчування. Одного маркерного алергену зазвичай достатньо для підтвердження полісенсibilізації, оскільки крос-реактивність у такому випадку є досить високою.

Наведені переваги застосування мультиплексних методів МАД спікер продемонстрував на прикладі низки клінічних випадків, у рамках яких за допомогою ALEX®-тесту було виявлено справжні причини стану пацієнтів, що зробило можливим надати їм відповідні рекомендації.

Отже, за допомогою мікрочіпових досліджень, зокрема нового покоління таких, як ALEX®, можлива діагностика полісенсibilізації до пилку і/або рослинної їжі: профіліни, полькальцини, CCD; можуть бути ідентифіковані перехресно-реагуючі харчові алергени: PR-10, молекули LTPs, парвальбумін тощо. Наприкінці доповіді спікер підкреслив, що на сьогодні МАД є такою, що й досі розвивається, але вклад її в повсякденну практику лікаря-алерголога вже важко переоцінити.



Є.М. Дитятковська

Головний експерт з питань алергології м. Дніпро та Дніпропетровської області, д-р мед. наук, професор **Є.М. Дитятковська** зупинилась на сучасних методах визначення IgE, характеристичі, клінічному значенні та можливостях. Спікер продемонструвала еволюцію методів визначення IgE від радіоімунного аналізу до мікрочіпової діагностики, що є новітнім

підходом до кількісного та якісного визначення специфічних IgE, чутливість якої наближається до такої радіоімунних методів, дає можливість проводити одночасний скринінг за багатьма алергенами, потребує мінімальних витрат реактивів і забезпечує швидкі валідні результати дослідження.

Найсучаснішим представником зазначених методів на сьогодні є ALEX®-тест, заснований на колориметричній ферментній амплікації; характеризується надійністю, точністю, швидкістю та простотою у використанні. Проведення лише одного тестування дає можливість отримати паспорт сенсibilізації (122 молекули + 160 екстрактів + загальний IgE. Приблизно собівартість 1 алергену становить приблизно 23 грн. Метод є кількісним, здатен блокувати антитіла CCD, має зручну систему інтерпретації та спеціальне програмне забезпечення. Допомагає практикуючому алергологу прийняти рішення щодо терапії, рекомендацій щодо дієти та елімінаційних заходів з урахуванням анамнезу.

У Дніпрі та Дніпропетровській області пацієнтам з алергічною патологією було виконано велику кількість ALEX®-тестів, їх результати були оброблені, узагальнені й співставлені з даними прик-тестів. Отже, за результатами прик-тестування в м. Дніпро, в пацієнтів з полінозами спостерігали наступні результати: до пилку амброзії було сенсibilізовано 96%, циклохени – 84%, полину – 74%, соняшника – 68%, лободи – 20%, кукурудзи – 10%, квітучих трав – 9%. У структурі перехресної пилкової сенсibilізації за результатами прик-тестів спостерігали сенсibilізацію до 4 алергенів – 41%, до 3 – 24%, 5 і більше – 18%, 2 алергенів – 14% і до 1 алергену – 3%. Тобто отримані результати

шкірних прик-тестів свідчать, що 80% пацієнтів мають сенсibilізацію до 3 і більше алергенів. Чи так це насправді?

Частота виявлених головних компонентів білків алергенів у пацієнтів м. Дніпро за даними МАД: всього протестовано 621 пацієнта, з них сенсibilізацію виявили у 341 (55%): до полину – 30%, кліщів домашнього пилу – 21%, амброзії – 19%, альтернатив – 10%, тимофіївки – 8%, алергенів кішки – 4%, дерев – 4%, аспергілюса – 2%, алергенів собаки – 1%.

У Дніпровському регіоні також проводили дослідження профілю сенсibilізації у дітей і підлітків, в дослідженні взяли участь 94 особи з будь-якою історією алергічних захворювань (60 хлопчиків, 35 дівчаток, середній вік –  $8,7 \pm 10,4$  року). Загальний рівень сироваткового IgE становив 186,5 kU/L. Профіль сенсibilізації за специфічними IgE до екстрактів алергенів становив: амброзія – 76%, альтернатива – 51,1%, береза – 46,8%, алергени кішки – 40,4%, кліщі домашнього пилу – 40,4%, бермудська трава – понад 30%, тифіївка – понад 20%, жито – понад 20%, бук – понад 20%, вільха – понад 20% тощо. Профіль сенсibilізації до молекул алергенів: Amb a 1 – 75,83%, Fel d 1 – 43,15%, Alt a 1 – 40,4%, Bet v 2 – 40,4%, Pho d 2 – понад 30%, Art v 1 – понад 30%, Bet v 1 – понад 30%, Ole t 2 – понад 20%, Der p 1 – понад 30%, Lol p 1 – понад 30%.

Отже, компонентна алергодіагностика дає змогу визначити та спрогнозувати перехресні реакції, спрогнозувати ефективність алерген-специфічної імунотерапії (АСІТ) та обрати препарат для АСІТ, надати рекомендації щодо запобігання контакту з алергенами, передбачити довгостроковий прогноз перебігу захворювання.



А.І. Курченко

Завідуючий кафедрою клінічної імунології і алергології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, д-р мед. наук, професор **А.І. Курченко** у доповіді, присвяченій імунологічній аспектам алергічних захворювань, зупинився на проблемі сенсibilізації до кліщових алергенів.

Кліщі домашнього пилу поширені повсюдно і зустрічаються на всіх континентах, у тому числі антарктичній дослідній станції. За оцінками, у 84% домівок США виявлені алергени пилових кліщів. Прибережні регіони з найбільшою щільністю заселення пиловими кліщами зазвичай знаходяться в кліматичних зонах з помірно-теплою температурою повітря і великою кількістю опадів. У регіонах з сухим кліматом щільність заселення кліщів домашнього пилу низька. Міста, що розташовані на великій висоті над рівнем моря, такі як Каракас, Богота, Найробі, також мають високу щільність кліщів через великі сезонні рівні опадів і вологості повітря.

Кліщі *Dermatophagoides farinae* мають тенденцію домінувати у більш сухих середовищах проживання через свою нижчу критичну активність, натомість *Dermatophagoides pteronyssinus* зустрічаються у більш вологих регіонах. Близько 75% ваги кліщів домашнього пилу становить вода. Кліщі не можуть пити воду самотійно і дуже залежні від вологості навколишнього



середовища, поглинаючи воду через кінцівки. Така здатність зберігається за відносної вологості не менше ніж 65%, при цьому кліщі починають втрачати воду шляхом випаровування приблизно при 55% вологості, а виживання знижується, коли вологість стає нижчою за 50%. Кліщі не можуть контролювати температуру власного тіла, їх оптимальна життєдіяльність перебуває в діапазоні 75–80% відносної вологості та 25–30 °С, однак вони здатні витримувати великі коливання вологості повітря й температури, ховаючись у місцях, де може краще утримуватись вологість (матраси, дивани, ковдри). Отже для загибелі кліщів необхідно, щоб минули місяці низької вологості.

Кліщі не мають органів зору, що призводить до значної фотофобії. Життєвий цикл кліщів домашнього пилу триває від 60 до 100 днів. Розмножуються вони статевим шляхом. Самки відкладають близько 80 яєць. Цикл розвитку від яйця до дорослої особини становить 35 днів. Кліщі домашнього пилу живляться лусочками шкіри теплокровних тварин разом з грибами та бактеріями. Травний тракт виробляє фекальні часточки (приблизно 20 гранул на день), їх оточує перитрофічна мембрана, вони мають розмір з пилкове зерно (діаметром 10–35 нм). За весь життєвий цикл кліщ виробляє 1000 фекальних часточок. За відсутності їжі кліщі займаються копрофагією. Ферменти перитрофічної мембрани дають змогу додатково розщеплювати їжу.

Першим ідентифікованим у 1980 р. алергеном кліщів був алерген 1 цистеїнової протеази *D. pteronyssinus*, або Der p 1, далі – Der p 2 і гомологічні алергени, що їх було отримано від *D. farinae* 1 і 2. 90% пацієнтів з алергією на кліщів домашнього пилу сенсibilізовані до алергену Der p 1. Натепер існує 24 різноманітні типи алергенів пилового кліща. Слід відмітити, що хоча Der p 11 не надто причетний до респіраторних алергічних захворювань, він, напевно, є основним алергеном при atopічному дерматиті.

*D. pteronyssinus* – європейський кліщ домашнього пилу. Симптомами дерматофагоїдозу можуть бути бронхіальна астма, atopічний дерматит, алергічний риніт і кон'юнктивіт. Більше ніж 25 алергенних протеїнів (Der p 1 – Der p 37) представлено різноманітними родинами ензимів. Основні алергени – Der p 1, Der p 2, Der p 5, Der p 7, Der p 10, Der p 11, Der p 23. Сконцентровані у фекаліях кліщів домашнього пилу головні алергени групи (Der p 2 та Der f 2) здатні активувати вроджені імунні реакції через унікальний механізм. Der p 2-та Der f 2-алергени через специфічну молекулу MD2 напряму взаємодіють з комплексом TLR4. Ця властивість Der p 2- та Der f 2-алергенів забезпечує їм якість загального алергену для шкіри та дихальних шляхів.

АСІТ алергенами кліщів є ефективним засобом лікування IgE-опосередкованих алергічних захворювань дихальних шляхів, зумовлює імунологічну толерантність і забезпечує довгостроковий клінічний ефект. До основних імунологічних механізмів АСІТ відносять імунну девіацію від Th2 до Th1, блокування продукції специфічних IgE (sIgE) та індукцію регуляторних Т-клітин (Treg).

У пацієнтів з алергічним ринітом клінічний ефект АСІТ корелює з імунологічними змінами на гуморальному і клітинному рівнях. Перший складається зі зниженого співвідношення sIgE/IgG<sub>4</sub> та збільшення рівня sIgG<sub>4</sub>. Другий складається зі зниженої відповіді

ефекторних клітин, таких як Th2, Th9 та Th17, а також підвищеного рівня клітин Th1-профілю.

Більшість досліджень пов'язують сприятливі клінічні ефекти при АСІТ зі збільшенням кількості Treg. Багато авторів стверджують, що ефективність АСІТ значною мірою пов'язана зі змінами кількості Т-клітин, що продукують IL-10, які здатні пригнічувати продукцію IL-4 Th2, що призводить до зниження продукції IgE плазматичними клітинами. Однак ефективність АСІТ може бути пов'язана не лише зі збільшенням проценту Treg-клітин, а й з їхньою підвищеною функціональною активністю. Існує припущення, що АСІТ спроможна індукувати Treg з високою супресорною активністю, яка діятиме на Th2-ефекторні клітини, шунтуючи імунологічний профіль у бік патерну Th1/Treg і толерантної відповіді.



К.Ю. Гашинова

Завідувача кафедрою професійних хвороб і клінічної імунології, д-р мед. наук, професор **К.Ю. Гашинова** у своїй доповіді висвітлила проблему такої складної і досить рідкісної патології, як бронхо-легеневий аспергілез. Збудник бронхо-легеневого аспергілезу *Aspergillus fumigatus* відомий вже понад 300 років, і за цей час було сформульовано розуміння того, як цей збудник взаємодіє з макроорганізмом людини. Було виділено два шляхи взаємодії:

- взаємодія *A. fumigatus* як інфекційного агента: колонізація (у пацієнтів без імуносупресії) спричиняє утворення поодиноких аспергілом, нодулярний аспергілез, кавернозний аспергілез; інвазія (у пацієнтів з імуносупресією) спричинює підгострий інвазивний аспергілез;
- взаємодія *A. fumigatus* як аероалергена, що спричинює розвиток алергічного бронхолегеневого аспергілезу (АБЛА). Як алерген даний збудник проявляє свою алергізувальну дію у пацієнтів з астмою та муковісцидозом.

Однак АБЛА – не єдине респіраторне захворювання, пов'язане з гіперчутливістю до *A. fumigatus*, існує так званий аспергілезний марш, коли одна форма захворювання трансформується в іншу, більше того – аероалерген стає алергеном. Отже АБЛА – це реакція гіперчутливості, що індукується *A. fumigatus* у разі колонізації бронхів у імунокомпетентних осіб.

Захворювання доволі рідкісне: в загальній популяції пацієнтів з астмою зустрічається в 1–2%, у випадку тяжкої стероїд-залежної бронхіальної астми (БА) – у 2–15%. Частіше хворіють підлітки з муковісцидозом, люди молодого та середнього віку, що страждають на БА. У патогенезі провідну роль відіграє як генетична схильність, так і Т-клітинна відповідь 2-го типу.

Згідно з Рекомендаціями Британського торакального товариства, а також вітчизняними, розділяють наступні клінічні стадії АБЛА:

- 1-ша – гостра: характеризується лихоманкою, кашлем, біллю в грудях, кровохарканням, коричневими пробками в мокротинні. Інфільтрати виявляють у верхніх і середніх частках, рівень сироваткового IgE

значно підвищений. Можливості лікування на даній стадії: преднізолон 0,5 мг/кг упродовж 1–2 тиж з наступним переходом на застосування через день і зниженням дози кожні 2 тиж до 6–8 тиж (обов'язковим є контроль рівня IgE);

- 2-га – ремісія: асимптомна/стабільна БА, відсутність потреби в системних глюкокортикостероїдах (ГКС) більше ніж 6 міс, рівень сироваткового IgE підвищений чи в нормі. Лікування: стандартна терапія БА та муковісцидозу, контроль IgE кожні 8 тиж;
- 3-тя стадія – загострення: симптоми аналогічні гострій стадії, інфільтрати у верхній або середній частці легень, рівень сироваткового IgE значно підвищений. Лікування таке, як гострої стадії;
- 4-та стадія – стероїд-залежна астма: стійка, тяжка астма, інфільтрати відсутні чи тимчасові, рівень сироваткового IgE – підвищений або нормальний. Лікування – 10–40 мг преднізолону щоденно;
- 5-та стадія – фіброз термінальної стадії: характеризується ціанозом, задишкою, фіброзними, бульозними чи порожнинними ураженнями, рівень сироваткового IgE може бути нормальним. Лікування – 10–40 мг преднізолону, але доцільність сумнівна.

Діагностичні критерії АБЛА можна розділити на такі, що належать до факторів ризику, – симптоми астми чи муковісцидозу; основні – позитивні шкірні тести з *A. fumigatus*, рівень загального IgE 1000 МО/мл (якщо є всі інші критерії IgE < 1000); додаткові критерії: sIgE та IgG до *A. fumigatus*, інфільтрати в легенях, центральні бронхоектази, еозинофілія периферійної крові 500 кл/мл.

Щодо діагностики АБЛА, офіційно ВООЗ та Міжнародним об'єднанням імунологічних товариств (WHO/IUIS) схвалено 23 алергени *Aspergillus*. В лінійці мультиплексного методу МАД ALEX® є молекули *A. fumigatus*. Доволі складно в даному алергені виділити мажорні чи мінорні алергени через значний вплив супутньої патології (астма чи муковісцидоз), а також велику кількість перехресних алергенів (Asp f 6, Asp f 8, Asp f 11, Asp f 27) з високим ступенем реактивності з іншими грибами, а також білками людини. Але єдиний специфічний маркер сенсibilізації

до *A. fumigatus* – Asp f 1. Маркерами АБЛА є Asp f 2, Asp f 4.

Спікер зауважила, що всі міжнародні рекомендації, принаймні в разі першого загострення АБЛА, рекомендують застосовувати протигрибкові препарати. Показаннями до призначення протигрибкових препаратів є перше загострення АБЛА, стероїд-залежна астма. Протигрибкові препарати здатні потенціювати дію системних ГКС. Препаратами вибору є азоли, зокрема перевага надається ітраконазолу – 200 мг двічі на добу 16 тиж; 200 мг 1 раз на добу 16 тиж. Вориконазол – ефективний для лікування АБЛА, однак у разі тривалого застосування може спричинити онкологічні захворювання шкіри. Обов'язковим під час застосування антифунгальної терапії є моніторинг побічних ефектів через гепатотоксичність і можливість взаємодії з іншими лікарськими засобами.

Основним патогенетичним механізмом АБЛА є Т-хелперний механізм 2-го типу, що спричиняє вироблення високого рівня IgE, отже в перспективі моноклональні анти-IgE (омалізумаб) можуть зайняти своє місце, оскільки за даними рандомізованих досліджень було продемонстровано, що в пацієнтів з АБЛА, яким призначали омалізумаб, спостерігали значне клінічне поліпшення, зменшення кількості госпіталізацій, потреби в пероральних ГКС.

Щодо АСІТ у випадку АБЛА – роботи, що їх було виконано на базі Інституту фтизіатрії та пульмонології ім. Ф.Г. Яновського під керівництвом проф. О.М. Рекалової, свідчать про те, що АСІТ є ефективною в разі фунгальної сенсibilізації.

Отже потенціал і місце МАД на сьогодні не викликають сумніву з огляду на переваги у вигляді більш точної діагностики полісенсibilізації, можливостей діагностики перехресної сенсibilізації тощо. Наявний на сучасному ринку мультиплексний метод ALEX® дає можливість з високою точністю визначити 282 алергени та загальний IgE. Незабаром світ побачить нова модифікація методу – ALEX 2® зі збільшеною кількістю молекул алергенів, що безумовно зможе розширити можливості алергодіагностики.

Підготувала Анна Артюх