

Многокомпонентный молекулярный ALEX-тест: новые возможности в диагностике аллергии

По материалам научно-практической конференции «Современные вопросы аллергологии», 2-3 апреля, г. Днепр

В наши дни аллергические заболевания становятся все более актуальной проблемой, что обусловлено как увеличением их распространенности, так и тяжестью течения. Поллинозы, пищевая, бытовая и медикаментозная аллергия значительно ухудшают качество жизни пациентов; анафилаксия, ангионевротический отек и бронхиальная астма (БА) являются потенциально опасными состояниями, нередко приводящими к фатальным исходам. Аллергия играет важную роль в патогенезе редких, но тяжелых заболеваний, например аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА). Введение в практику многокомпонентного молекулярного анализа значительно улучшило качество диагностики, открывая новые перспективы в контроле и лечении аллергии. Одним из таких методов является ALEX-тест, клинические преимущества которого были продемонстрированы многими учеными в ходе конференции.



Доктор медицинских наук, профессор Владимир Данилович Бабаджан (Харьковский национальный медицинский университет) рассказал о возможностях нового теста.

– При использовании микста аллергенов (АГ) в прик-тесте в организм попадает большое количество белков, что часто вызывает местные и общие побочные реакции. ALEX-тест – это твердофазный иммунный анализ, в котором аллергенные экстракты или молекулярные АГ связаны с наночастицами и размещены на твердой подложке, образуя макроскопическую решетку (отсюда и название MacroArray). После процедуры тестирования выполняется сбор и анализ данных с использованием устройства дистанционного сканирования ImageXplorer. Результаты анализируются с помощью программного обеспечения Raptor Analysis от MADx. Метод высокоточный, количественный, дающий возможность измерять IgE в большом диапазоне концентраций. Реагент для блокировки антител к кросс-реактивным углеводным детерминантам (CCD) позволяет на 74% уменьшить клинически противоречивые сигналы, что существенно улучшает диагностику аллергических заболеваний.

Протокол теста включает концентрацию общего IgE (tIgE), перечень групп АГ с количественными результатами и цветной кодировкой степени сенсибилизации. Состав АГ: пыльца трав, деревьев, сорняков, плесень, дрожжевые грибы, клещи, тараканы, эпидермис и шерсть животных, яд насекомых, пищевые продукты (зерновые культуры и семена, яйца, молоко, фрукты, бобовые культуры и орехи, морепродукты, специи, мясо, овощи) и др. (например, латекс).

Клинический пример. Пациентка с периоральным дерматитом. Результаты ALEX-теста, kU/l: rPhl p 1 – 11, Ole t 1 – 0,9; rBet v 1 – 5,8; nPla a 2 – 15; PR-10 протеин rBet v 1 – 5,8; rAln g 1 – 3,9; rCor a 1.0401 – 11; rMal d 1 – 15. Вывод: специфические IgE (sIgE) ко многим АГ пыльцы (береза, платан, тимофеевка). IgE к березе Bet v 1 (PR-10) – это патоген-ассоциированный белок, содержащийся также в пыльце ольхи и растительных продуктах питания (яблоко, фундук), что дает кросс-реактивность. Не рекомендуется употреблять яблоки, фундук, морковь в сыром (термически не обработанном) виде. Коррекция пищевого режима значительно улучшила клиническое состояние.

Таким образом, новые подходы кардинально изменили парадигму диагностики аллергии. Если раньше устанавливали анамнез, календарь цветения растений, характер питания, определяли tIgE, наиболее важные sIgE, постепенно переходя к выявлению причинного триггера, то макрочип-диагностика

позволяет одновременно определить, к каким классам АГ и конкретным аллергокомпонентам сенсибилизирован пациент. И, что особенно важно, если аллергия вызвана мажорными АГ, можно выбрать специфическую иммунотерапию (СИТ).



Главный эксперт по вопросам аллергологии г. Днепра, доктор медицинских наук, профессор Евгения Михайловна Дитятковская особо отметила удобство проведения и быстроту процедуры.

– ALEX-тест – это новое поколение современных тестов *in vitro* диагностики аллергических реакций I типа, который можно проводить в острый период заболевания. Позволяет одновременно определить 283 показателя: tIgE + 122 молекулы + 160 экстрактов. Это наибольшая панель молекулярных компонентов АГ на рынке, что обеспечивает полное представление о сенсибилизации пациента. Простота визуализации результатов и быстрота выполнения позволяют принимать точные решения о СИТ, диете и элиминации; на результат не влияет лечение, которое принимает пациент. Это единственная система с интегрированной способностью блокировки антител CCD, которые находятся

на АГ, способны индуцировать продукцию IgE и очень похожи у совершенно разных АГ. Поэтому сенсибилизация к CCD часто приводит к ложноположительным результатам. Доступная цена (23 грн за 1 АГ) для полисенсибилизированных пациентов.

Клинический пример. Спектр сенсибилизации взрослых жителей г. Днепра (n=621), страдающих поллинозом согласно результатам прик-тестов: амброзия – 96%, цикламена – 85%, полынь – 74%, подсолнух – 68%, лебеда – 20%, кукуруза – 11%, весенне-летние травы – 9%; домашняя пыль, клещи, эпидермальные АГ – 41%. У 84% пациентов сенсибилизация к ≥3 АГ. Результаты ALEX-теста (n=77, средний возраст – 38±11 лет, аллергические заболевания в анамнезе): tIgE – 112 (от 3 до 2779) kU/l. Профиль sIgE к экстрактам АГ: амброзия – 65%, полынь – 56%, береза – 49%, тимофеевка, овес, полова – по 30%, клещ домашней пыли – 27%, лесной орех, оливки, ольха, вишня, подсолнух – по 20%, кошка – 19,5%. Профиль sIgE к молекулам АГ: Amb a 1 – 69% (амброзия), Art v 1 – 44% (полынь), Bet v 2 (береза), Pho d 2 (финики) – по 40%, Aln g 1 – 38% (альтернания), Mal d 3 – 36% (яблоки), Bet v 1 – 36% (береза), остальные – ≤30%. Высокий уровень сенсибилизации иногда наблюдался у пациентов с нормальным tIgE.

Следовательно, ALEX-тест позволяет определить причинно-значимый АГ, перекрестные реакции, долгосрочный прогноз течения заболевания и дать четкие рекомендации по специфической десенсибилизации, диете и элиминации с хорошими клиническими результатами.



Профессор Гюнтер Штурм (Австрия), руководитель клиники аллергологии и дерматологии в Вене, один из основателей молекулярной аллергологии в Европе, член исследовательской группы в Граце про-

иллюстрировал преимущества молекулярной диагностики клиническими примерами.

– Кожный прик-тест можно использовать, если речь идет об аллергии к нескольким АГ. Особой формой является кожный тест – прик-тест (prick-to-prick) для подтверждения диагноза пищевой аллергии с использованием свежих фруктов или других продуктов питания. Исчерпывающую информацию дают молекулярные тесты: 1) Singleplex (CAP system) – определение аллергии к одному АГ, что достаточно дорого; 2) Multiplex – тестирование на множество АГ (ImmunoCAP ISAC 112, Faber 244, MADx ALEX 282).

Принципы молекулярной диагностики. Большинство АГ состоит из смеси нескольких молекул, например, арахис содержит Ara h 8 и 2. Значение аббревиатуры: rAra h 2 (r – recombinantный наивысшего качества, s – синтетический, n – натуральный; Ara h – три буквы рода и первая буква вида *Arachis hypogaea*, 2 – время идентификации). Молекулярный анализ позволяет их разделить и распознать. Это дает возможность определения 1) наиболее патогенных АГ, которые собственно вызывают сенсибилизацию; 2) гиперчувствительности к паналлергенам; 3) перекрестной аллергии.

Клинический пример № 1. Женщина, 44 года, полисенсибилизация к разным видам пыльцы (травы, береза, полынь,

DERMIFANT® – с первых дней

Рекомендовано педиатрами и дерматологами

Преимущества:

1. Клинически доказанная эффективность галеновых систем (Wohlrab et al. 2015)
2. Дерматологически и аллергологически проверено на atopической коже
3. Активные ингредиенты для детей **с первых дней**
4. Без ароматизаторов, красителей, консервантов (в т.ч. парабенов) и натуральных аллергенов



ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ALLERGIKA Pharma GmbH 82515 Вольфратсхаузен, Германия. www.allergika.de
ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР В УКРАИНЕ
ООО «Дансон Фарма»: www.allergika.com.ua

Телефоны:
+38 (044) 225 05 77 +38 (098) 839 50 76
info@dansonpharma.com
info@allergika.com.ua

амброзия); ринит и конъюнктивит май – июнь, зуд во рту после употребления томатов и дыни. Результаты молекулярной диагностики: «+» АГ пыльцы трав Phl p 1 и Phl p 5; главные АГ березы, полыни и амброзии «–», уровни IgE низкие. Диагноз: аллергия на пыльцу трав, обусловленная профилином.

Профилин также является АГ латекса. Всего их 15, ALEX-тест определяет 7. Аллергия к латексу устанавливается при сенсibilизации к Nev b 1, 3, 5 и 6. Результат у пациента с моносенсibilизацией к профилину: tIgE – 63,5 (N <120) kU/l; sIgE: Latex rNev: b 1 (rubber elongation factor), b 3 (small rubber particle protein), b 5 (acidic protein), b 6.02 (prohevein), b 9 (enolase), b 11 (class 1 chitinase) – 0; b 8 (profilin) – 2 (N 1,68) kU/l. Моносенсibilизация к Nev b 8 не увеличивает риск при хирургическом вмешательстве.

Клинический пример № 2. У пациента подозрение на респираторную аллергию с нетипичной клиникой: изредка кашель, насморк без четкой связи с АГ или временем цветения. Диагностика с экстрактами выявила сенсibilизацию к пыльце березы и тимофеевки (4,7 и 93,5 kU/l). При блокаде CCD получены негативные результаты. Вывод: неистинная ингаляционная аллергия. Молекулярная диагностика дает возможность дифференцировать истинную и перекрестно-реактивную сенсibilизацию.

Клинический пример № 3. У пациента возникает эритема после употребления в пищу орехов/семян, но он не уверен, связано ли это с орехами. Результаты теста нетипичны (kU/l): арахис – 41,6; миндаль – 40,3; кешью – 1,7; фисташки – 22,6; грецкий орех – 6,2; потому что кешью и арахис, как правило, кросс-реактивны. После блокировки CCD все АГ отрицательные, что исключает аллергию на орехи.

Клинический пример № 4. Пациентка 19 лет, риноконъюнктивит в мае – июне, иногда в апреле. Синдром оральной аллергии при употреблении сладкого перца, апельсинов, яблок. Результаты Singleplex, kU/l: tIgE – 730; тимофеевка – 46,4; береза – 1,55. Аллергия на пыльцу трав, березы? Синдром оральной аллергии из-за кросс-реактивности к пыльце березы (белки PR-10 или LRT) или другая причина?

Кросс-реактивность между березой и растительной пищей может быть обусловлена: 1) термолабильными PR-10-подобными протеинами: Bet v 1 (береза) → Ara h 8 (арахис), Mal d 1 (яблоко), Cor a 1 (лесной орех). В этом случае симптомы мало выражены, поскольку АГ теряют свои аллергенные свойства при термической обработке или в среде желудка; 2) термостабильными белками переноса липидов LRT: Ara h 9 (арахис), Mal d 3 (яблоко), Cor a 8 (лесной орех), Pru p 3 (персик) – синдром оральной аллергии, кросс-реактивность между продуктами небольшая (например, на персик, но не на яблоко). В этом случае был редкий тип аллергии – позитивным оказался Bet v 6, изофлавоновая редуктаза, которая также присутствует в сладком перце, апельсинах, бананах, яблоках. Только с помощью молекулярной диагностики можно установить диагноз: клинически значимая аллергия на пыльцу трав, синдром оральной аллергии, вызванный изофлавоновой редуктазой.

Клинический пример № 5. Пациентка 27 лет, аллергический ринит (пыльца березы и травы, клещ домашней пыли), многочисленные анафилактические реакции с раннего детства: крапивница, головокружение, гипотензия, БА. Триггеры: коровье молоко, орехи, рыба, морепродукты. Последняя реакция год назад, вызвана употреблением кофе с порошком лесного ореха. Результаты Singleplex, kU/l: tIgE – 1197, sIgE: треска Gad c 1 (парвальбумин) – 54,4; кешью – 6,5; креветка – 2,2; креветка Pen a 1 (тропомиозин) – 1,9; арахис Ara h 8

Таблица. Мажорные и минорные компоненты клещей *D. pteronyssinus*, *D. farinae*

Аллергенная молекула*	Биохимическое название	Распространенность среди пациентов, %
Der p 1, Der f 1	Цистеиновая протеаза	70-100
Der p 2, Der f 2	Семейство белков NPC2 (эпидермальные секреторные протеины)	80-100
Der p 3, Der f 3	Трипсиноподобный протеин	16-100
Der p 4, Blo t 4	α-амилаза	25-46
Der p 5, Blo t 5	?	50-70
Der p 7, Der f 7	Липидсвязывающий белок	50
Der p 8, Der f 8	Глутатион S-трансфераза	40
Der p 10, Der f 10	Тропомиозин	5-18, 50-59
Der p 11	Парамиозин	80
Der p 21	?	?
Der p 23	Перитрофиноподобный протеин	74

Примечание: *полукурсивным шрифтом выделена линейка аллергенов ALEX-теста (рекомбинантные).

(PR-10) – 2,7; Ara h 1-3 и 9, а также персик Pru p 3 (LTR) – отрицательно. Сенсibilизация к паналлергенам к рыбе и морепродуктам. Сенсibilизация к арахису из-за перекрестной аллергии на пыльцу березы. ALEX-тест подтвердил сенсibilизацию к паналлергенам к рыбе и морепродуктам и позволил выявить чувствительность к запасным белкам орехов/семян (2S альбумин). Таким образом, ALEX-тест дает возможность выявления АГ, которые невозможно предположить по клиническим проявлениям и результатам Singleplex.



Заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца (г. Киев), доктор медицинских наук, профессор Андрей Игоревич Курченко

остановился на вопросе аллергии к клещам домашней пыли.

– Клещи домашней пыли, в основном *D. pteronyssinus* и *D. farinae*, широко распространены, особенно в зонах с умеренно теплым климатом с большим количеством осадков. Способны выдерживать значительные колебания температуры, прячась в матрацах, коврах, диванах. Питаются чешуйками кожи человека, теплокровных животных, грибами, бактериями. Главный источник аллергии – фекальные частицы клеща диаметром 10-35 нм, окруженные перитрофической мембраной, содержащей ферменты, которые позволяют дополнительно расщеплять пищу. При отсутствии пищи у клещей возможна копрофагия.

Симптомы дерматофагоидоза: БА, atopический дерматит, аллергический ринит и конъюнктивит. Более 25 АГ (Der p 1-37), представлены различными семействами энзимов (табл.). Der p 11 – основной АГ при atopическом дерматите – редко связан с респираторной аллергией.

Главные АГ клеща (Der p 2, Der f 2) способны активировать врожденные иммунные реакции напрямую, взаимодействуя с комплексом TLR4 (toll-like receptor) через специфическую молекулу MD-2. Это обеспечивает их свойство быть общим АГ для кожи и дыхательных путей. TLR4 стимулируют липополисахариды бактерий. Бактериальная среда, которую потребляет и производит клещ, меняется под воздействием химических агентов, лекарственных препаратов, моющих средств. Поэтому молекулярной аллергологии есть над чем работать.

Эффективным методом лечения IgE-зависимых аллергических заболеваний дыхательных путей является СИТ, обуславливающая иммунологическую толерантность и долгосрочный клинический эффект. Основные механизмы действия СИТ: девиация Th2 → Th1-клеток, блок продукции sIgE (↓ sIgE/IgG4, ↓ sIgG4) и индукция регуляторных Т-клеток (Treg), продуцирующих интерлейкин (IL)-10 и трансформирующий фактор роста-β (TGFβ). Быстрая реакция на СИТ

связана с выбросом большого количества TGFβ, тогда как прочный долгосрочный эффект (через 1-2 года) поддерживается IL-10.



Доктор медицинских наук, профессор Екатерина Юрьевна Гашинова (ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины») выступила с докладом об АБЛА.

– *Aspergillus fumigatus* действует не только как инфекционный агент, но и как аэроаллерген, прежде всего при тяжелой БА или муковисцидозе, запуская Th2-подобный механизм 2 типа с образованием большого количества IgE. Первые симптомы напоминают пневмонию: лихорадка, кашель, боль в грудной клетке, инфильтраты; отличительными чертами являются коричневые пробы в мокроте и критически повышенный IgE. В итоге возникает тяжелая стероидорезистентная и, тем не менее, стероидозависимая БА и, наконец, легочной фиброз.

Диагностические критерии: наличие инфильтратов, центральных бронхоэктазов; эозинофилия крови >500/мл; положительный результат кожных проб с *A. fumigatus*; tIgE >1000 МЕ/мл, хотя более важным является повышение sIgE, для выявления которых можно использовать ALEX-тест, где присутствует линейка молекулярных АГ на *A. fumigatus*. Зарегистрировано 23 молекулярных АГ, которые в той или иной степени относятся к *Aspergillus*, однако трудно выделить мажорные и минорные белки, поскольку это зависит от основного заболевания (БА/муковисцидоз). Существует также множество перекрестных АГ с высокой реактивностью с другими грибами и даже белками человека. Маркером специфической сенсibilизации является только Asp f 1; маркеры АБЛА – Asp f 2, 4 и 6.

Лечение: системные глюкокортикоиды (ГК); в стадии ремиссии – ингаляционные ГК + β₂-агонисты. При первом обострении – противогрибковые препараты (итраконазол, вориконазол), которые также потенцируют действие ГК. Изучается возможность применения моноклональных антител к IgE и СИТ.

Таким образом, у молекулярной диагностики аллергии бесспорные преимущества в идентификации факторов, вызывающих полисенсibilизацию к пыльце и/или растительной пище (профилин, полкальцин, CCD), а также кросс-реактивных пищевых АГ (PR-10, LTS, парвальбумин). Чиповая диагностика аллергии в процессе развития, линейка АГ расширяется и усвершенствуется, предоставляя новые возможности диагностики редких аллергических заболеваний. Метод ALEX-теста дает возможность с высокой точностью определять 282 количественных показателя и уровень tIgE, что гарантирует успешную элиминацию и точный выбор СИТ в случае обнаружения мажорных АГ.

Подготовила Ольга Королюк

ALEX

ALLERGY EXPLORER

кращий метод діагностики алергії

- Панель із 282 алергенів в одному дослідженні
- Охоплює більш ніж 99% всіх стандартних діагностичних тестів
- Можливо проводити в період цвітіння, та на тлі прийому антигістамінних і гормональних препаратів
- Гарантія точності кожного показника

Пройти обстеження можливо в алергоцентрі клініки сімейної та функціональної медицини FxMed та медичних центрах-партнерах.

ПОДРОБИЦІ НА
WWW.MACROARRAYDX.COM.UA/TEST