

*На правах рукописи*

**ДУШИНА ЛЮДМИЛА ВАЛЕНТИНОВНА**

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛЛЕРГЕН-  
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПЫЛЬЦЕ  
СОРНЫХ ТРАВ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Москва – 2021**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Барычева Людмила Юрьевна**

**Официальные оппоненты:**

**Курбачева Оксана Михайловна** - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России», отделение бронхиальной астмы, заведующая;

**Смолкин Юрий Соломонович** – доктор медицинских наук, профессор, Академия пост-дипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», профессор кафедры клинической иммунологии.

**Ведущая организация:** Обособленное структурное подразделение Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ в 12 часов на заседании диссертационного совета Д 001.035.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им И.И. Мечникова» по адресу: 105064, г. Москва, Малый Казенный пер., д 5А

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им И.И. Мечникова» и на сайте [www.instmech.ru](http://www.instmech.ru)

Автореферат разослан "\_\_\_" \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

**Яковлева Ирина Владимировна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В течение последних десятилетий распространенность пыльцевой аллергии в мире неуклонно растет (Klimek L. et al., 2019, Damialis A. et al., 2019). В Российской Федерации поллинозом страдает до 30% взрослых и не менее 10% детей (Вишнева Е.А. и др., 2014, Козулина И.Е., Курбачева О.М., Ильина Н.И., 2014). Основными источниками аэроаллергенов на Юге России являются сорные травы, пыльца которых у 12-46% населения становится индуктором аллергического ринита и бронхиальной астмы (Трофименко С. Л., Ракова К.А., 2015, Бурдули Н.Н. и др., 2015, Мачарадзе Д.Ш., 2019). В Ставропольском крае доля сезонного ринита среди аллергических заболеваний достигает 80% (Садовнича Л.Т., 2003, Уханова О.П., Эбзеева И.И., 2019).

Аллерген-специфическая терапия (АСИТ) является единственным патогенетически обоснованным методом лечения пыльцевой аллергии, направленным на иммунные механизмы и модифицирующим течение заболевания (Pfaar O. et al., 2018, Huang Y. et al., 2019, Насунова А.Ю., Ненашева Н.М., 2019, Hiu Yan Lam et al., 2020). Одним из основных механизмов АСИТ является антигенспецифическая десенсибилизация базофилов и тучных клеток (Akdis C.A., Akdis M., 2015, Czarnobilska E.M. et al., 2018, Feng M. et al., 2020).

Весьма актуальным в практике любого аллерголога является выбор препарата для АСИТ, особенно у пациентов с сенсibilизацией к 2-3 аллергенам (олигосенсibilизация) и более (полисенсibilизация) (Leśniak M. et al., 2016, Мачарадзе Д.Ш., 2019). Эта проблема становится трудноразрешимой в отдельных климатических зонах, где одновременно пылят сразу несколько растений с высоким аллергизирующим потенциалом (Heffler E., 2016). Золотым стандартом при диагностике аллергического ринита принято считать назальный и конъюнктивальный провокационные тесты, вместе с тем они имеют ряд серьезных недостатков (Heffler E., 2016, Eguiluz-Gracia I. et al., 2019).

Метод молекулярной аллергодиагностики (МА) характеризуется специфичностью, точностью, позволяет определить истинную и кросс-реактивную сенсibilизацию, однако необходимы дополнительные исследования для того, чтобы рассматривать МА в качестве надежного прогностического биомаркера АСИТ (Hamilton R.G., 2017, Callery E.L. et al., 2020).

В исследованиях последних лет показано, что тест активации базофилов (Basophil activation test – ВАТ) является надежным аналогом провокационных проб и может эффективно использоваться при диагностике IgE-опосредованных заболеваний и мониторинге аллерген-специфической иммунотерапии (Heffler E., 2016, Feng M. et al., 2020). Среди механизмов АСИТ, объясняющих информативность ВАТ, установлено снижение экспрессии

CD63, CD203c, CD107a и гистаминсвязывающего фермента диаминооксидазы с уменьшением чувствительности базофилов к аллергену и их способности к высвобождению гистамина (Witting Christensen S.K. et al., 2014, Shamji M.H., Durham S.R., 2017). Целевая группа EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) рассматривает тест активации базофилов как один из биомаркеров, способных предсказать клинической ответ на аллерген-специфическую иммунотерапию у пациентов с аллергическим ринитом (Shamji M.H., Durham S.R., 2017).

**Степень разработанности темы исследования.** В ряде масштабных исследований показано, что определение ответа базофилов на аллергены является хорошим инструментом для диагностики IgE-зависимых заболеваний и мониторинга эффектов аллерген-специфической иммунотерапии (Hoffmann H.J. et al., 2015, Feng M. et al., 2020). Установлена высокая чувствительность ВАТ при диагностике аллергического ринита у пациентов, сенсibilизированных к пыльце березы (Leśniak M. et al., 2016), тимофеевки (Zidarn M. et al., 2012), оливы (Campo P. et al., 2015), клещу домашней пыли (Czarnobilska E.M. et al., 2018, Duarte Ferreira R. et al., 2019). Показана положительная корреляция результатов теста активации базофилов и назальных провокационных проб (Campo P. et al., 2015, Heffler E., 2016, Duarte Ferreira R. et al., 2019). Вместе с тем его диагностическая значимость и экономическая целесообразность недостаточно подтверждены.

Аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) является наиболее рациональным методом лечения пыльцевой аллергии с высоким уровнем доказательности (Dhami S. et al., 2017, Pfaar O. et al., 2018, Huang Y. et al., 2019, Насунова А.Ю., Ненашева Н.М., 2019, Hiu Yan Lam et al., 2020). Тест активации базофилов рассматривается в качестве потенциального биомаркера индукции иммунной толерантности и эффективности АСИТ (Kepil Özdemir S. et al., 2014, Bidad K. et al., 2014). Снижение ВАТ установлено после АСИТ аллергенами тимофеевки (Zidarn M. et al., 2012, Kepil Özdemir S. et al., 2014), полыни (Kim S.H. et al., 2018), клещей домашней пыли (Czarnobilska E.M. et al., 2018, Feng M. et al., 2020). Однако существует и другая точка зрения. В ряде работ не доказана информативность ВАТ как предиктора эффективности АСИТ аллергенами пыльцы трав (Van Overtvelt L. et al., 2011), яда осы (Erdmann S.M. et al., 2004), клещей домашней пыли (Kim S.H. et al., 2018). Вероятно, на результаты ВАТ оказывают влияние свойства сенсibilизирующего аллергена, используемые маркеры ВАТ и продолжительность АСИТ.

Таким образом, изучение реактивности базофилов с применением ВАТ представляется актуальным для рациональной диагностики аллергического ринита, обусловленного сенсibilизацией к пыльце сорных трав, а также в качестве перспективного предиктора эффективности АСИТ.

**Цель исследования:** определение диагностической значимости теста активации базофилов у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав, получающих аллергенспецифическую иммунотерапию.

#### **Задачи исследования**

1. Определить молекулярные профили сенсibilизации к мажорным аллергенам амброзии и полыни у пациентов с аллергическим ринитом, сенсibilизированных к пыльце сорных трав.

2. Оценить вероятность ошибок при выборе АСИТ на основании кожных проб у пациентов с моно-, олиго- и полисенсibilизацией к пыльце сорных трав в регионе Ставропольского края.

3. Изучить спонтанную и индуцированную аллергеном активацию базофилов у пациентов с аллергическим ринитом при сенсibilизации к пыльце сорных трав.

4. Оценить клиническую эффективность аллерген-специфической иммунотерапии у пациентов с аллергией к пыльце сорных трав у пациентов Ставропольского края.

5. Определить динамику специфических IgE к мажорным аллергенам амброзии (*nAmb a1*) и полыни (*nArt v1*) на фоне аллерген-специфической иммунотерапии.

6. Определить характеристику спонтанной и индуцированной аллергеном реактивности базофилов на фоне аллерген-специфической терапии у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав.

7. Оценить возможность применения теста активации базофилов (ВАТ) для мониторинга эффективности аллерген-специфической иммунотерапии при сенсibilизации к пыльце сорных трав.

**Научная новизна исследования.** Впервые проведено определение молекулярных паттернов сенсibilизации к мажорным аллергенам амброзии и полыни у пациентов с аллергическим ринитом (АР), сенсibilизированных к пыльце сорняков, в регионе Ставропольского края. Установлена максимальная распространенность паттернов – *nAmb a1+ nArt v1-* (38,3%) и *nAmb a1+ nArt v1+* (43,4%), минимальная – *nAmb a1- nArt v1-* (13,3%), *nAmb a1- nArt v1+* (5%). Выявлена высокая вероятность ошибок при выборе АСИТ с преимущественным учетом кожных проб, составившая 8,3% у пациентов с моносенсibilизацией к амброзии, 33,3% – олигосенсibilизацией к амброзии и полыни, 58,3% – полисенсibilизацией к пыльце деревьев, луговых и сорных трав.

Впервые показано увеличение спонтанной и индуцированной аллергеном активации базофилов, коррелирующее с уровнем специфических антител к мажорным аллергенам амброзии и полыни у пациентов с АР, сенсibilизированных к пыльце сорных трав. Впервые проведена оценка эффективности АСИТ аллергенами сорных трав на когорте

пациентов с АР в регионе Ставропольского края (СК), составившая 67,3% после первого курса аллерген-специфической иммунотерапии и 76,7% – после второго.

Впервые определена динамика специфических IgE и индексов соотношения общего и специфических IgE к мажорным аллергенам амброзии и полыни при мониторинге и наблюдении пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав и получавших АСИТ. Впервые установлено уменьшение спонтанной и индуцированной аллергеном реактивности базофилов под влиянием АСИТ. Показано, что раннее снижение средних показателей ВАТ взаимосвязано с положительными результатами АСИТ.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Получены данные о молекулярном профиле сенсibilизации к отдельным компонентам аллергенов пыльцы у пациентов с моно- олиго- и полисенсibilизацией к сорнякам, проживающих в Ставропольском крае. Распространенность сенсibilизации к мажорному аллергену амброзии (*nAmb a1*) составила 81,7%, полыни (*nArt v1*) – 48,3%.

Установлены существенные различия между результатами кожных проб и показателями молекулярной аллергодиагностики. Определение специфических IgE к мажорным аллергенам пыльцы растений может привести к изменению программы АСИТ у 43,3% пациентов, что будет способствовать увеличению ее эффективности.

У пациентов, сенсibilизированных к сорным травам, выявлена диагностическая значимость спонтанной и индуцированной аллергеном реактивности базофилов, что позволяет применять ВАТ в практике аллерголога в качестве арбитражного теста при невозможности определения специфических IgE к мажорным и минорным аллергенам методом ImmunoCap; несоответствии кожных проб и показателей специфических IgE.

Показана существенная динамика показателей ВАТ при клинико-лабораторном мониторинге эффективности АСИТ. Установлено, что раннее снижение показателей ВАТ, зарегистрированное через 3 месяца после начала иммунотерапии, может использоваться в качестве предиктора ее эффективности с уровнем чувствительности 80,6%, специфичности – 70,6%, положительной – 74,4% и отрицательной – 77,4% предсказательной ценности.

**Методология и методы исследования.** Диссертационное исследование выполнено на кафедре иммунологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета в дизайне экспериментального одноцентрового открытого проспективного плацебо-неконтролируемого исследования с использованием клинических, аллергологических, инструментальных, иммуноферментных методов. Специфические IgE к аллергокомпонентам пыльцы определяли методом непрямой иммунофлуоресценции ImmunoCap, тест активации базофилов – методом проточной цитометрии с использованием набора

Allergenicity Kit Beckman Coulter (США) в спонтанных и стимулированных условиях.

Объект исследования – пациенты от 16 лет до 55 лет с установленным диагнозом «Аллергический ринит», вызванным пылью сорных трав, имевшие показания к проведению АСИТ, находившиеся на диспансерном учете в аллергокабинете краевого клинического консультативно-диагностического центра г. Ставрополя (АНМО СККДЦ). Для подкожной АСИТ применяли водно-солевые экстракты пыльцевых аллергенов (ФГУП НПО «Микроген», Ставрополь) в соответствии с результатами кожных проб. Проводили два предсезонных курса лечения. Методология работы основана на установлении взаимосвязи между иммунологическими маркерами (специфические IgE к аллергокомпонентам пыльцы, показатели ВАТ) и эффективностью АСИТ.

Предмет исследования – динамика специфических IgE к мажорным аллергенам пыльцы, а также реактивности базофилов в спонтанных условиях и после провокации аллергеном пыльцы при мониторинге АСИТ. Забор периферической крови проводили до лечения, после окончания первого и второго предсезонных курсов АСИТ. Клиническую оценку эффективности АСИТ осуществляли через 6 и 18 месяцев после начала иммунотерапии. Результативность АСИТ оценивали по балльной шкале, разработанной А.Д. Адо (Адо А.Д., 1976), а также с учетом клинических симптомов (шкала RTSS – Rhinconjunctivitis total symptom score) (Shamji M.H., et al., 2015) и объема лекарственной терапии, необходимой для контроля заболевания (шкала DMS – Daily medication score) (Pfaar O. et al., 2014).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол №61 от 18.01.2017 г.). Клинико-инструментальное и лабораторное обследования пациентов выполнялось на базе отделений АНМО СККДЦ, постановка теста активации базофилов (ВАТ), определение специфических IgE методом ImmunoCap – в отделении лабораторной диагностики АНМО СККДЦ (зав. отделением к.м.н. Бондарева В.П.).

### **Положения диссертации, выносимые на защиту**

1. У 43,3% пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав, выбор программы АСИТ на основании результатов Prick-тестов может быть ошибочным, что подтверждается результатами компонент-разделенной молекулярной аллергодиагностики.

2. Аллергия к пыльце сорных трав сопровождается увеличением спонтанной и индуцированной реактивности базофилов, а тест активации базофилов может быть использован для уточнения причинно-значимого сенсibilизирующего аллергена.

3. Аллерген-специфическая иммунотерапия способствует снижению активации базофилов в спонтанных и стимулированных условиях, что связано с положительными результатами АСИТ.

4. Тест активации базофилов с рекомбинантными аллергенами пыльцы, выполненный через 3 месяца после начала соответствующей АСИТ, может быть использован в качестве раннего предиктора ее эффективности с уровнем чувствительности 80,6%, специфичности – 70,6%, положительной – 74,4% и отрицательной – 77,4% предсказательной ценности.

**Степень достоверности.** Достоверность результатов исследования обоснована применением принципов и методологических стандартов проведения клинических исследований, тщательно спланированным дизайном работы, применением технологий и методов доказательной медицины, репрезентативностью и достаточным объемом обследованной когорты пациентов, использованием адекватных методов статистической обработки полученных данных. Применяемые в работе методы обследования пациентов с АР рекомендованы российским и международным сообществами клинических аллергологов-иммунологов. Полученные в диссертационной работе результаты обсуждены и интерпретированы с учетом данных, опубликованных в отечественной и зарубежной научной литературе. Представленные в работе положения доложены на российских и международных конгрессах и конференциях. Выводы и практические рекомендации аргументированы, корректны и логически обоснованы полученными результатами.

**Практическое использование результатов исследования.** Результаты работы внедрены в практику лечебной работы аллергокабинетов АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница». Результаты исследования используются в курсе лекций и практических занятий образовательной программы подготовки кадров циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки по специальности «Аллергология-иммунология» ИПДО ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет». Результаты диссертационного исследования применяются в учебном процессе на кафедре иммунологии с курсом ДПО со студентами педиатрического и лечебного факультетов.

**Публикации и апробация работы.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на межрегиональной научно-практической конференции педиатров, неонатологов и детских реаниматологов (Ставрополь, 2019), международном научном форуме «Наука и инновации – современные концепции» (г. Москва, 2020, 2021), межвузовском



международном конгрессе «Высшая школа: научные исследования» (г. Москва, 2020), заседаниях кафедр иммунологии с курсом ДПО, клинической фармакологии с курсом ДПО, клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, клинической биохимии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» (протокол №10 от 29.01.2021 г.). По материалам диссертации опубликовано 10 работ, 4 из них опубликованы в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 155 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 32 отечественных и 264 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 21 таблицей и 41 рисунком. Работа выполнена на кафедре иммунологии с курсом ДПО в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (номер гос. регистрации – АААА-А17-117041910082-6).

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материал и методы исследования.** Представленные в диссертационном исследовании данные получены при проспективном обследовании и диспансерном наблюдении 60 больных аллергическим ринитом в возрасте от 16 до 55 лет (22 женщины, 38 мужчин), находившихся на лечении в аллергокабинете краевого клинического консультативно-диагностического центра г. Ставрополя (АНМО СККДЦ) в 2018-2020 гг. В группу I включены 12 пациентов с моносенсибилизацией к пыльце амброзии, в группу II – 12 больных с олигосенсибилизацией к амброзии и полыни, в группу III – 36 пациентов с полисенсибилизацией к сорным травам, злакам и деревьям. Средний возраст больных составил  $23,0 \pm 1,22$  года. В контрольную группу вошли 25 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 50 лет (20 мужчин, 5 женщин), средний возраст –  $23,9 \pm 1,62$  года. Из исследования исключали пациентов, ранее получавших курсы АСИТ, имевших противопоказания к проведению иммунотерапии, развивших выраженные аллергические реакции в процессе лечения, не соблюдавших режим АСИТ, беременных и кормящих грудью женщин. Лечение не проводили больным с неконтролируемой БА, а также пациентам с показателями ОФВ1 менее 70%. Все обследуемые подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Работа выполнена в дизайне обсервационного одноцентрового открытого проспективного плацебо-неконтролируемого исследования. Диагноз J30.1 Аллергический ринит, вызванный пылью растений, и J45.0 Атопическая бронхиальная астма устанавливали на основании Федеральных клинических рекомендаций

(2019) и рекомендаций ARIA-2018 (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma). Наблюдение за пациентами проводили в течение 2-х лет. На первом этапе исследования у пациентов, отобранных для АСИТ, проводили клинические, инструментальные и лабораторные исследования, кожные пробы с аэроаллергенами (Prick-тесты), инициировали 1-й курс предсезонной АСИТ. На втором и третьем этапах исследования осуществляли катамнестическое наблюдение пациентов для мониторинга ВАТ, уровней специфических IgE и оценки клинической эффективности АСИТ. Забор периферической крови проводили перед началом лечения, после окончания первого и второго предсезонных курсов АСИТ, что соответствовало 0-му, 3-му и 15-му месяцам лечения. Визиты к аллергологу для мониторинга клинических симптомов АР назначали через 6 и 18 месяцев после начала АСИТ.

Клинические, инструментальные и лабораторные исследования выполнялись в АНМО СККДЦ г. Ставрополя и включали анализ аллергологического анамнеза, клинический осмотр, определение степени тяжести аллергического ринита, переднюю риноскопию, при необходимости – рентгенологическое исследование околоносовых пазух, компьютерную томографию и эндоскопическое исследование полости носа и околоносовых пазух. При оценке клинических данных применяли шкалу RTSS (Rhinoconjunctivitis total symptom score) (Pfaar O. et al., 2015). В дневниках самонаблюдения пациенты ежедневно регистрировали интенсивность клинических симптомов поллиноза, сведения о принимаемых лекарственных препаратах. Врач анализировал 6 клинических признаков заболевания – затруднение носового дыхания, чихание, ринорею, зуд в полости носа, слезотечение, зуд глаз. Применяли балльную шкалу RTSS: отсутствие признака – 0 баллов, минимальная выраженность симптомов – 1 балл, умеренная – 2 балла, максимально высокая – 3 балла. Количество баллов за сутки колебалось в пределах от 0 до 18. Учет лекарственной терапии проводился с использованием шкалы dMS (Daily medication score) по схеме: отсутствие приема лекарственных средств – 0 баллов, системные или топические антигистаминные препараты или блокаторы лейкотриеновых рецепторов – 1 балл, интраназальные топические ГКС в качестве монотерапии или в комбинации с топическими или системными антигистаминными или антилейкотриеновыми препаратами – 2 балла, системные глюкокортикоиды, как монотерапия или в сочетании с топическими или системными антигистаминными средствами или блокаторами антилейкотриеновых рецепторов – 3 балла. Количество баллов за сутки составляло от 0 до 3-х (Pfaar O. et al., 2014).

При аллергообследовании применяли тест уколом (Prick-тест) с использованием 3-5% водных растворов стандартных пылевых аллергенов (ФГУП НПО «Микроген», Ставрополь). Выбор препарата для АСИТ осуществлялся на основании кожных проб и показателей специфических IgE к аллергокомпонентам в сыворотке крови. У пациентов с

моносенсибилизацией к пыльце амброзии использовали водно-солевой аллерген амброзии, у больных с олигосенсибилизацией – аллергены амброзии и полыни, полисенсибилизацией – комбинации аллергенов: амброзия+полынь, амброзия+timoфеевка, амброзия+береза. Инъекции осуществляли в наружную поверхность плеча разных конечностей с 30-минутным интервалом между введением первого и второго аллергена. Лечение начинали в январе-феврале, за 3-4 месяца до начала цветения. Проведено два предсезонных курса АСИТ. Первый курс лечения завершили 52 пациента, второй курс – 43. Для подкожной иммунотерапии применяли водно-солевые экстракты пыльцевых аллергенов амброзии, полыни, тимофеевки и березы (ФГУП НПО «Микроген», Ставрополь) в соответствии с медицинской инструкцией по применению препарата. Средняя курсовая доза аллергена достигала 3200 PNU. АСИТ проводилась в условиях аллергологического кабинета. После введения алерговакцины за пациентом наблюдали не менее 40 минут. В случае возникновения нежелательных реакций регистрировали их частоту и выраженность. Лечение прекращали при развитии системных осложнений в виде распространенной уртикарной сыпи и ангиоотека мягких тканей лица, бронхоспазма, снижения артериального давления. Клиническую оценку эффективности АСИТ проводили через 6 и 18 месяцев после начала иммунотерапии. Результативность АСИТ оценивали по балльной шкале (Адо А.Д., 1976). В случае отсутствия симптомов поллиноза и потребности в лекарственной терапии в сезон пыления трав результат считали отличным, при возникновении легких симптомов, купирующихся на фоне симптоматических средств, – хорошим, при снижении интенсивности и длительности симптомов, однако требующих приема лекарств более 2-х раз в неделю, – удовлетворительным, при отсутствии эффекта от АСИТ или усилении симптомов – неудовлетворительным. Дополнительно использовались шкалы RTSS, DMS.

Наличие IgE к алергокомпонентам березы повислой (Bet v1, rBet v2, rBet v4), тимофеевки луговой (rPhl p1, rPhl p5b, rPhl p7, rPhl p12), амброзии полыннолистной (nAmb a1), полыни обыкновенной (nArtv1, nArt v3) регистрировали методом непрямой иммунофлуоресценции ImmunoCap с использованием тест-системы Phadiator на иммунохемилюминесцентном анализаторе Phadia 100, Швеция.

Оценку уровня активации базофилов в ответ на алергены (ВАТ) *in vitro* проводили методом проточной цитометрии с использованием набора Allergenicity Kit Beckman Coulter (США) в спонтанных и стимулированных условиях. В качестве алергенов для активации использовали алергены фирмы Buhlmann Laboratories AG, Германия – ВАG-Т3-берёза бородавчатая (Betula); ВАG-W1-амброзия полыннолистная (Ambrosia); ВАG-W1-6-полынь обыкновенная (Artemisia); ВАG-G6-timoфеевка луговая (Phleum). Алергены для стимуляции выбирали в зависимости от спектра сенсибилизации пациента. Для

каждого образца крови готовили 3 пробы: проба «Neg» – негативный контроль; проба «Pos» – позитивный контроль; проба «Test» – исследуемый аллерген. Для исследования в каждую пробирку вносили по 100 мкл цельной крови с консервантом ЭДТА. Затем добавляли по 20 мкл моноклональных антител CD203c-PE/CD3-PC7/CRTH2-FITC. В пробирку с негативным контролем вносили 20 мкл фосфатно-солевого буфера ФСБ, в пробирку с позитивным контролем – 20 мкл рабочего раствора положительного контроля, в 3-ю пробирку – 20 мкл исследуемого аллергена. Для усиления процесса активации во все пробирки добавляли по 100 мкл активирующего раствора. Содержимое пробирок аккуратно перемешивали на Vortex, затем инкубировали при 37°C в течение 15 минут в термостате. Для остановки процесса активации изучаемых клеток в каждую пробирку вносили по 100 мкл стоп-раствора, содержащего 0,1% раствор азиды натрия (NaN<sub>3</sub>). Анализ проводили на лазерном проточном цитометре Navios, Beckman Coulter, США. Базофилы идентифицировали по экспрессии CRTH2 и CD203c. Активированные базофилы «in vitro» определяли по фенотипу CRTH2pos CD203brightCD3neg. Сбор данных останавливали после набора 500 базофилов, что соответствовало 130000 – 300000 проанализированных лейкоцитов. Для оценки реактивности базофилов использовали показатели спонтанной и стимулированной активации, а также ИС ВАТ (индекс стимуляции), определяемый как соотношение процента активированных базофилов в пробах с аллергеном к уровню их активации в негативном контроле (ВАТ<sub>стим.</sub>/ВАТ<sub>спонт.</sub>). Для пациентов, сенсibilизированных, как к пыльце сорных, так и луговых трав и/или деревьев проводили два и более тестов активации базофилов с соответствующими аллергенами. Снижение количества CD203-позитивных базофилов после первого и второго курсов АСИТ учитывали, если отмечалось уменьшение аллерген-стимулированной активации базофилов в 1,2 раза и более.

**Статистические методы исследования** осуществляли с помощью специализированных лицензионных программ «Statistica SPSS», «Primer of Biostat 4,0», «Attestat 10.5.1.». Количественные значения представляли в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)). Для оценки межгрупповых различий применяли однофакторный дисперсионный анализ, критерии Крускала-Уоллиса, Ньюмена-Кейлса, Данна. Корреляционный анализ проводили с вычислением коэффициентов линейной корреляции Спирмена. Анализ качественных признаков выполняли с помощью критерия  $\chi^2$ . Диагностическую ценность признаков оценивали их чувствительностью, специфичностью, положительной и отрицательной предсказательной ценностью. Для оценки ВАТ в качестве предиктора эффективности АСИТ вычисляли отношение шансов с определением 95% доверительного интервала, строили кривые Каплана-Майера с оценкой достоверности различий с помощью логрангового критерия с поправкой Йетса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Легкое течение аллергического ринита отмечено у 9 (15%) больных, среднетяжелое – у 44 (73,3%), тяжелое – у 7 (11,7%). В 41 (68,3%) случае в структуре коморбидной патологии диагностировались аллергический конъюнктивит, в 10 (16,7%) – бронхиальная астма, в 7 (11,7%) – пищевая аллергия, в 16 (26,7%) – атопический дерматит. При лабораторном обследовании у пациентов с аллергией к пыльце сорных трав определялись высокие уровни общего IgE 331 [149; 605,5] МЕ/мл, очень высокие специфические IgE к мажорному аллергену амброзии *nAmb a1* – 41,9 [1,62; 71,4] кЕ/л, средние – 1,25 [0,01; 3,89] кЕ/л аллергокомпоненту полыни *nArt v1*. Медиана количества баллов по визуально-аналоговой шкале RTSS у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорняков, достигала 13 [10; 15] баллов, по шкале dMS – 2 [2; 2].

При постановке Prick-тестов у 12 (20%) пациентов выявлена моносенсибилизация к пыльце амброзии, у 12 (20%) – олигосенсибилизация (сенсibilизация к двум аллергенам) – к амброзии и полыни, у 12 (20%) – полисенсибилизация к сорным травам – полыни, амброзии, подсолнечнику, лебеде, циклахене, у 17 (28,3%) – к сорным травам и тимopheевке, у 7 (11,7%) – к сорным травам и березе.

Антитела к мажорному аллергену амброзии *nAmb a1* методом молекулярной аллергодиагностики обнаружены в 81,7% случаях, полыни (*nArt v1*) – 48,3%, тимopheевки (*rPhl p1,5*) – 28,3%, березы (*Bet v1*) – 11,7%, что составляло 81,7 и 78,4%, 35,3 и 57,1% от числа пациентов, имеющих положительные результаты кожных проб. Наиболее распространенными паттернами сенсibilизации являлись *nAmb a1+ nArt v1-* (38,3%) и *nAmb a1+ nArt v1+-* (43,4%), реже встречались – *nAmb a1- nArt v1-* (13,3%), *nAmb a1- nArt v1+* (5%).

При сопоставлении кожных проб с результатами компонент-разделенной МА оказывается, что программа АСИТ, предложенная на основании Prick-тестов требует коррекции у 43,3% пациентов с аллергией к сорнякам, в том числе у 8,3% больного в группе с моносенсибилизацией, у 33,3% – с олигосенсибилизацией, у 58,3% – с полисенсибилизацией. При этом у 10,0% больных программа АСИТ не соответствует профилю сенсibilизации, у 6,7% – не охватывает полный спектр сенсibilизирующих аллергенов, у 26,7% – является избыточной.

### Тест активации базофилов при сенсibilизации к пыльце сорных трав, диагностические возможности

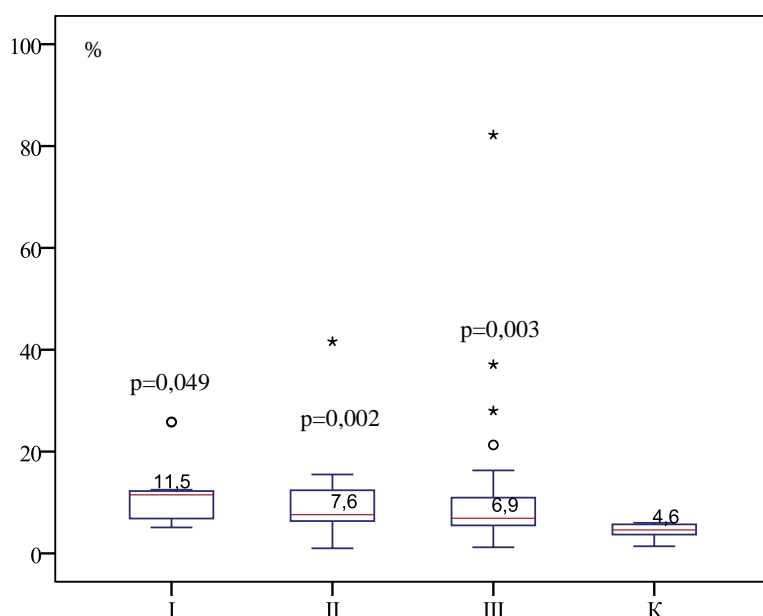
У пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав, отмечалось увеличение спонтанной активации базофилов по сравнению со здоровыми людьми (табл. 1).

Таблица 1 – Показатели спонтанной и индуцированной активации базофилов у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав

Показатель	Пыльцевая сенсibilизация	Контрольная группа	P
Спонтанная ВАТ, %	8,2 [6,1; 11,9]	4,6 [3,65; 5,45]	p=0,000049
ВАТ с аллергеном амброзии, %	64,7 [39,9; 80,3]	3,3 [2,3; 4,0]	p=0,00005
ИС ВАТс аллергеном амброзии	6,05 [2,7; 12,2]	0,81 [0,61; 0,91]	p=0,00014
ВАТ с аллергеном полыни, %	27,9 [19,2; 66,8]	3,5 [2,8; 4,1]	p=0,0003
ИС ВАТ с аллергеном полыни	3,1 [2,1; 7,6]	0,87 [0,71; 0,92]	p=0,00015

*Примечание:* p – статистическая значимость различий по сравнению с показателями в контрольной группе (критерий Манна-Уитни), ИС ВАТ – соотношение ВАТ<sub>стим.</sub>/ВАТ<sub>спонт.</sub>

Статистически значимые отличия от контрольной группы по уровню спонтанной активации базофилов определены в группах с моно- 11,5% [6,85; 12,25], олиго- 7,6% [6,35; 12,4] и полисенсibilизацией – 6,9% [5,5; 11,0] (рис. 1)

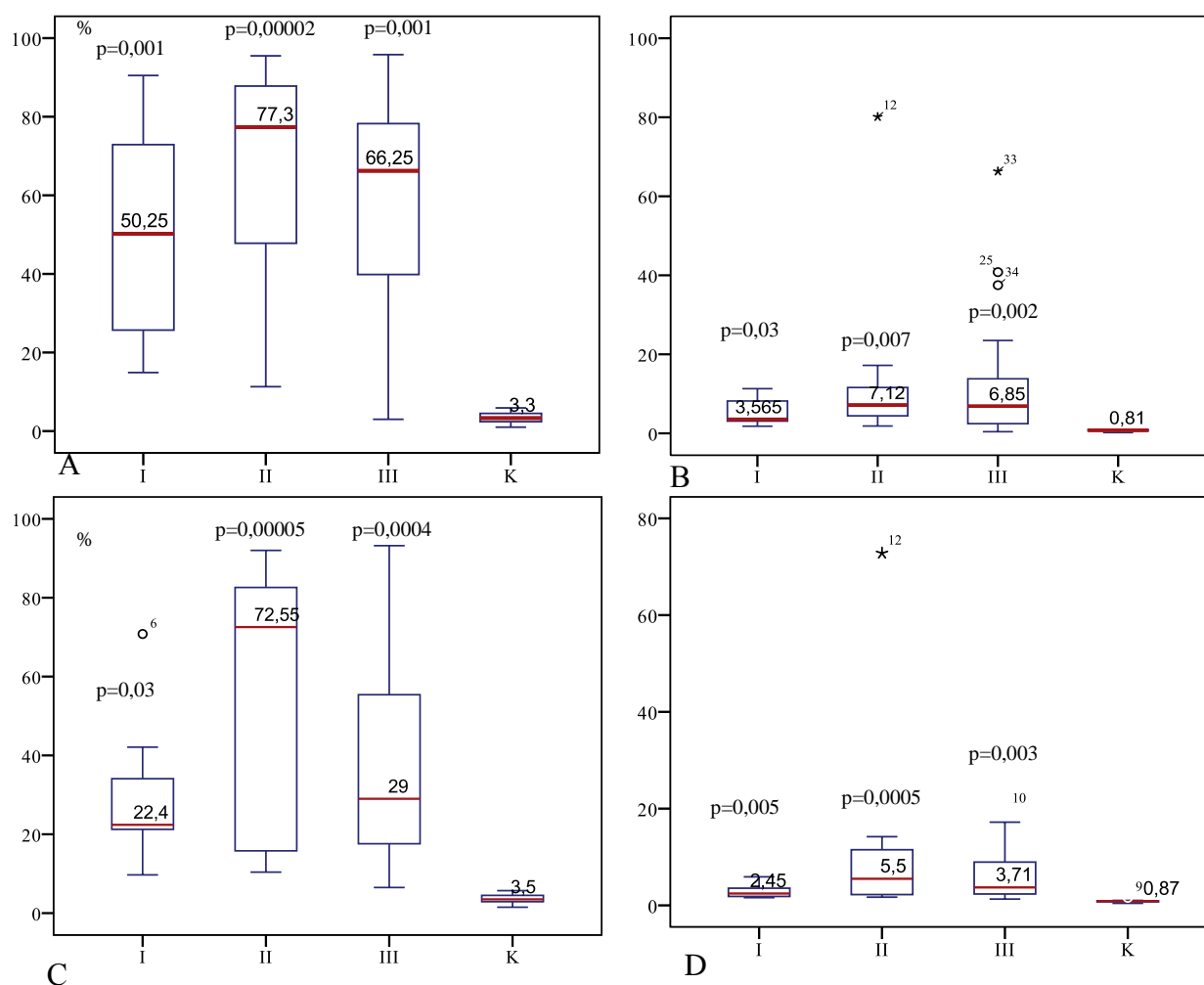


**Рис. 1 – Показатели спонтанной активации базофилов крови у пациентов с пыльцевой сенсibilизацией.** Для каждой группы отображены: медиана, квартильный размах (Q0,25-Q0,75), размах (минимум; максимум) переменной. I – моносенсibilизация, II – олигосенсibilизация, III – полисенсibilизация, К – контрольная группа. (p – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой (критерий Ньюмена-Кейлса, Данна))

У 52 (86,7%) пациентов с положительными Prick-тестами выявлено увеличение количества базофилов, активированных аллергеном амброзии. Высокие показатели ВАТ после провокации аллергеном полыни установлены в 40 (66,7%) случаях, в том числе у 31 из 37 (83,8%) больных, имевших положительные кожные пробы с аллергеном полыни и у 9 из 23 (39,1%) – с отрицательными результатами кожного тестирования.

У 48 из 52 (92,3%) пациентов положительный ВАТ-тест подтверждался наличием специфических IgE к мажорному аллергену амброзии *nAmb a1*, у 36 из 40 (90%) – к мажорному аллергену полыни *nArt v1*.

При определении медианы показателей ВАТ у пациентов с аллергией к пыльце сорняков установлено существенное увеличение количества активированных базофилов после провокации аллергенами амброзии и полыни. Статистически значимые различия показателей ВАТ с аллергеном амброзии по сравнению со здоровыми людьми отмечены в группах I – 50,3% [25,7; 72,9], II – 77,3% [47,8; 87,8] и III – 66,3% [39,9; 78,3] (рис. 2 А).



**Рис. 2 – Показатели индуцированной активации базофилов крови у пациентов с пылевой сенсibilизацией.** А – ВАТ с аллергеном амброзии, В – ИС ВАТ с аллергеном амброзии, С – ВАТ с аллергеном полыни, D – ИС ВАТ с аллергеном полыни. Для каждой группы отображены: медиана, квартильный размах (Q0,25-Q0,75), размах (минимум; максимум) переменной. I – моносенсibilизация, II – олигосенсibilизация, III – полисенсibilизация, K – контрольная группа. (p – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой (критерий Ньюмена-Кейлса, Данна))

Межгрупповых различий выявлено не было. Аналогичные закономерности получены и для ИС ВАТ. У пациентов с моносенсibilизацией к амброзии показатели достигают

ли 3,57 [3,09; 8,18], олигосенсибилизацией к пыльце амброзии и полыни – 7,12 [4,43; 9,4], полисенсибилизацией к пыльце сорных трав – 6,85 [2,45; 13,8] (рис. 2 В).

У пациентов с моно-, олиго- и полисенсибилизацией выявлено увеличение реактивности базофилов после провокации аллергеном полыни (рис. 2 С). При этом в группе с олигосенсибилизацией к амброзии и полыни определялись более высокие значения индуцированной ВАТ – 72,6% [15,8; 82,6]. Статистически значимые различия получены по сравнению с группой моносенсибилизированных к амброзии – 22,4% [21,3; 34,1],  $p=0,03$ , но не с группой полисенсибилизированных больных – 29,0% [17,6; 55,4]. Увеличение активации базофилов после инкубации с аллергеном полыни подтверждено и при определении ИС ВАТ (рис. 2 D). В группе I показатели составили 2,45 [1,85; 3,55], II – 5,50 [2,24; 11,5], III – 3,71 [2,3; 7,9], контрольной группе – 0,81 [0,71; 0,92]. Межгрупповых различий в зависимости от характера сенсибилизации установлено не было.

При определении средних значений специфических IgE методом компонент-разделенной молекулярной аллергодиагностики в группах с моно- и олигосенсибилизацией выявлены очень высокие уровни IgE к мажорному аллергену амброзии *nAmb a1* – 56,3 МЕ/мл [18,6; 91,0] и 47,9 МЕ/мл [32,8; 71,2] соответственно. У больных с полисенсибилизацией показатели IgE *nAmb a1* были значительно меньше – 25,1 МЕ/мл [0,24; 62,5], что, вероятно, связано с первичной сенсибилизацией к тимофеевке и березе у 1/3 пациентов этой группы. При этом статистически значимых различий установлено не было.

Средний уровень специфического IgE к мажорному аллергену полыни у пациентов, сенсибилизированных к сорнякам, был относительно невысоким (0,58 МЕ/мл [0,05; 3,8]), что обусловлено более частым формированием гиперчувствительности к амброзии у жителей Юга России. В группах с моносенсибилизацией к амброзии и полисенсибилизацией к сорнякам, деревьям и злакам специфический IgE *nArt v1* был очень низким – 0,25 МЕ/мл [0,01; 1,93] и 0,57 МЕ/мл [0,05; 3,45] соответственно. У пациентов с олигосенсибилизацией к амброзии и полыни уровень IgE *nArt v1* составил 3,58 МЕ/мл [0,16; 13,5], у 4-х из числа которых диагностирована первичная сенсибилизация к полыни.

При выполнении корреляционного анализа выявлена положительная связь умеренной силы между активацией базофилов, индуцированной аллергеном амброзии и уровнем IgE к мажорному аллергену амброзии – *nAmb a1* ( $r=0,55$ ,  $p=0,00001$ ), а также между индексом стимуляции ВАТ с аллергеном амброзии и уровнем IgE *nAmb a1* ( $r=0,54$ ,  $p=0,000006$ ).

Наличие средней положительной корреляционной связи установлено для ВАТ с аллергеном полыни и показателей IgE к главному аллергену полыни – IgE *nArt v1* ( $r=0,31$ ,  $p=0,049$ ), а также для ИС ВАТ и IgE *nArt v1* ( $r=0,52$ ,  $p=0,0005$ ).



Таким образом, в исследовании подтверждена диагностическая значимость теста активации базофилов при аллергическом рините. У сенсibilизированных пациентов наблюдается увеличение спонтанной активации базофилов и реактивности, стимулированной аллергеном, что коррелирует с уровнем специфических антител к мажорным аллергенам амброзии и полыни.

### **Динамика специфических IgE и реактивности базофилов на фоне АСИТ**

Отличных результатов после первого курса АСИТ удалось достичь у 5,8% больных, хороших и удовлетворительных – у 42,3% и 19,2%. После 2-х лет АСИТ эффективность лечения составила 20,9%, 37,2% и 18,6% соответственно. Суммарное количество баллов по шкале RTSS уменьшилось с 13 [10; 15] до 5 [4; 9] баллов после первого курса лечения и до 4,5 [3; 7,5] – после второго. Через год после начала АСИТ эффект отсутствовал у 32,7% пациентов, через 2 года – у 23,3%. Неэффективность двухлетнего курса АСИТ регистрировалась у 22,2% с олигосенсibilизацией к амброзии и полыни, у 28% – с полисенсibilизацией к пыльце трав и деревьев, и только у 11,2% – с моносенсibilизацией к амброзии.

Показатели специфических IgE к мажорным аллергенам амброзии (nAmb a1) и полыни (nArt v1), а также коэффициенты IgE спец. Amb a1/IgE общ. и nArt v1/ IgE общ. не изменялись в процессе АСИТ и не могут быть использованы в качестве промежуточных предикторов ее эффективности (табл. 2)

Таблица 2 – Влияние АСИТ на показатели специфических IgE у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав

Показатели	до лечения	после 1 курса АСИТ	после 2 курса АСИТ
IgE общий, МЕ/мл	331 [149; 605,5]	303 [168,5; 637,5]	320 [165,0; 590,0]
IgE nAmb a1, кЕ/л	41,9 [1,62; 71,4]	38,3 [0,69; 67,5]	35,0 [0,60; 55,0]
IgE nAmb a1/ IgE общ.	0,07 [0,03; 0,16]	0,08 [0,004; 0,19]	0,07 [0,003; 0,18]
IgE nArt v1, кЕ/л	1,25 [0,01; 3,89]	1,10 [0,08; 6,6]	1,9 [0,09; 11,0]
IgE nArt v1/ IgE общ.	0,007 [0,006; 0,025]	0,008 [0,006; 0,12]	0,01 [0,007; 0,09]
IgE rPh1 p1,5, кЕ/л	67,1 [0,01; 67,1]	70,3 [0,3; 70,3]	82,9 [0,5; 82,0]
IgE rPh1 p1,5/ IgE общ.	0,05 [0,0007; 0,05]	0,1 [0,0008; 0,1]	0,1 [0,0007; 0,1]

Уменьшение спонтанной активации базофилов после первого курса АСИТ отмечалось в 36,5% проб, после второго курса их количество возрастало до 69,8% (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние АСИТ на показатели ВАТ у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав

Показатели кол-во результатов / кол-во проб (%)	после 1 курса АСИТ	после 2 курса АСИТ
Снижение спонтанной активации базофилов	19/52 (36,5%)	30/43 (69,8%)
Снижение ВАТ после стимуляции аллергеном	58/86 (67,4%)	49/71 (69,0%)
Снижение ИС ВАТ после стимуляции аллергеном	43/86 (50,0%)	28/71 (39,4%)

У большинства пациентов в процессе мониторинга АСИТ выявлено уменьшение реактивности базофилов, стимулированной аллергеном. Снижение индуцированного ВАТ после первого курса АСИТ установлено в 67,4% проб, после второго курса – в 69,0%, индекса стимуляции ВАТ – в 50,0% и 39,4% соответственно.

Мы проанализировали ИС ВАТ в зависимости от эффективности АСИТ. Среди пациентов с положительным эффектом после 1-го курса АСИТ снижение ИС ВАТ наблюдалось в 68,6% случаев (рис. 3). У пациентов с отсутствием эффекта от лечения соответствующие показатели составили только 35,3%. При этом в 12 случаях снижение ИС ВАТ регистрировалось только в пробах с амброзией, у 2-х только с полынью, у 3-х только с тимофеевкой, у 7-и – с амброзией и полынью, у 4-х – с амброзией и тимофеевкой. Среди пациентов, имевших положительный эффект после второго курса АСИТ снижение ИС ВАТ отмечено в 57,6% случаев, при отсутствии эффекта – только у 20%.

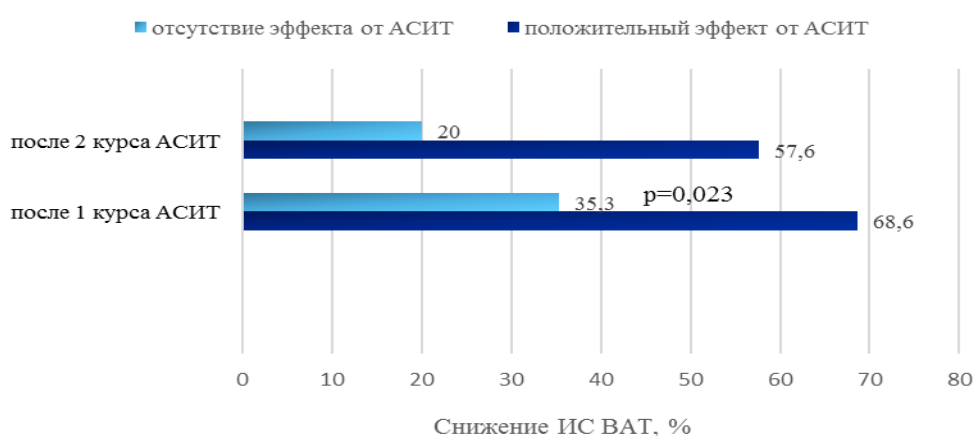
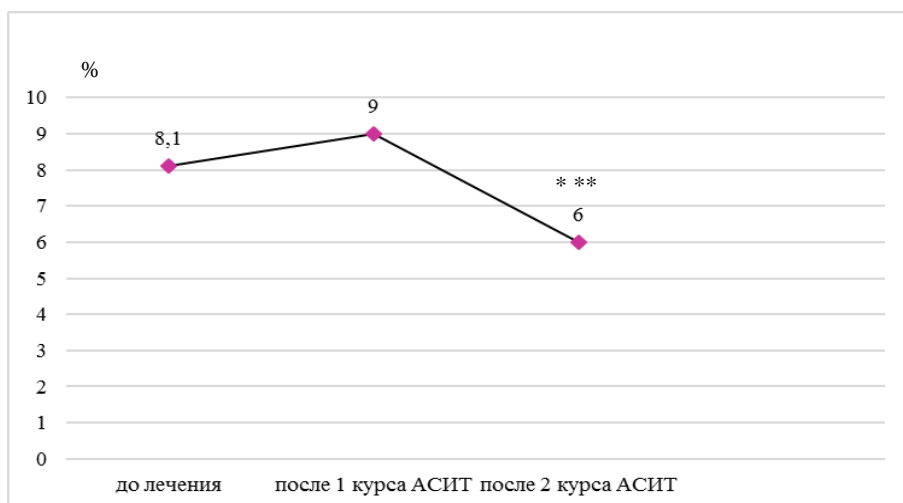


Рис. 3 – Снижение ИС ВАТ в зависимости от результата АСИТ. Примечание: p – статистическая значимость различий по сравнению с группой «Отсутствие эффекта от АСИТ» (критерий  $\chi^2$ )

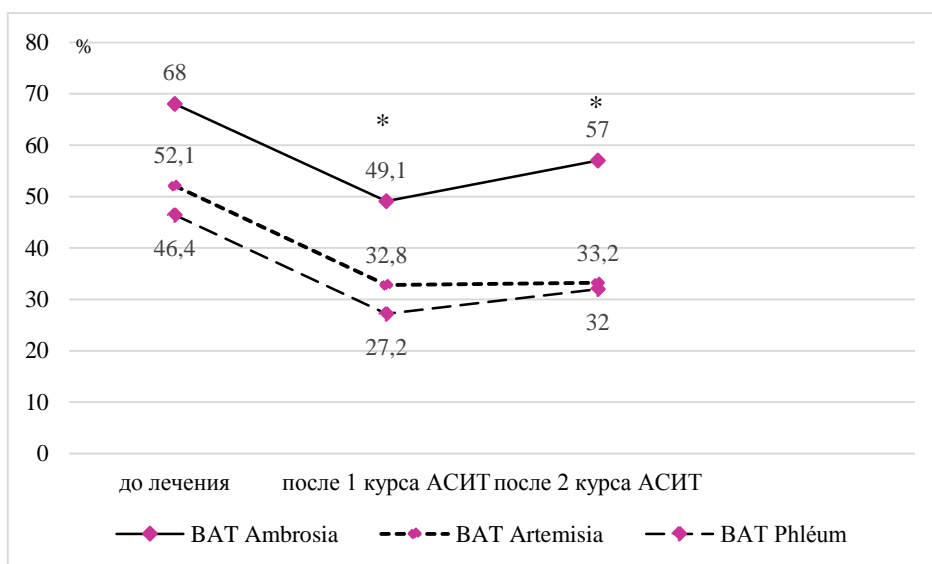
В 5 случаях наблюдалось снижение ИС в пробах с амброзией, в 6-ти только с полынью, в 3-х только с тимофеевкой, в 4-х – с амброзией и полынью, в 1-м – с амброзией и

тимофеевкой. При оценке медианы ВАТ выявлено снижение спонтанной активации базофилов через 15 месяцев после начала лечения (8,1 [6,1; 11,9] и 6,0 [4,0; 7,4],  $p=0,04$ ). После первого курса АСИТ статистически значимых различий не установлено (рис. 4).



**Рис. 4 – Динамика спонтанной реактивности базофилов у пациентов с сенсibilизацией к сорным травам, получавших АСИТ.** Примечание: \* -  $p<0,05$ , статистическая значимость различий по сравнению с показателями до лечения (критерий Ньюмена-Кейлса, Данна)

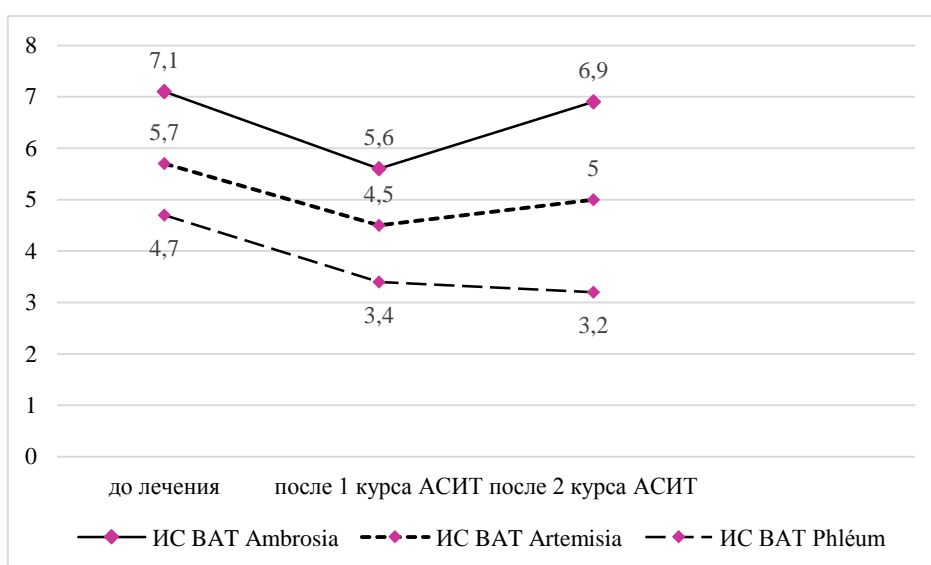
Показатели реактивности базофилов после провокации аллергенами амброзии (68 [46,7; 81,0] и 49,1 [35,5; 65,2],  $p=0,01$ ), полыни (52,1 [15,9; 81,9] и 32,8 [16,0; 54,4]) и тимофеевки (46,4 [21,7; 59,0] и 27,2 [13,1; 36,8]) существенно снижались у пациентов, получавших соответствующий вариант АСИТ уже после первого курса лечения (рис. 5).



**Рис. 5 – Динамика реактивности базофилов, стимулированной аллергеном, у пациентов с сенсibilизацией к сорным травам, получавших АСИТ.** Примечание: \* -  $p<0,05$ , статистическая значимость различий по сравнению с показателями до лечения (критерий Ньюмена-Кейлса, Данна)

После второго курса лечения их уровни несколько возросли (ВАТ Ambrosia – 57,0 [34,0; 67,0],  $p=0,01$ , ВАТ Artemisia – 33,2 [16,3; 64,5], ВАТ Phleum – 32,0 [11,0; 32,0]), однако не достигали значений до лечения. Статистически значимые различия были получены только для ВАТ с аллергеном амброзии, что, вероятно связано с небольшим объемом выборок пациентов, леченных аллергеном полыни и тимopheевки.

Индексы стимуляции базофилов (ИС ВАТ<sub>стим.</sub>/ВАТ<sub>спонт.</sub>) имели те же закономерности. Так ИС ВАТ Ambrosia до лечения составил 7,1 [3,2; 13,2], после первого курса АСИТ – 5,6 [2,9; 7,8],  $p=0,02$ , после второго – 6,9 [4,1; 11,5], ИС ВАТ Artemisia – 5,7 [2,1; 11,4], 4,5 [1,84; 7,35], 5,0 [2,2; 11,45], ИС ВАТ Phleum – 4,7 [2,1; 10,5], 3,4 [2,26; 8,7], 3,2 [2,7; 3,2] соответственно (рис. 6). Однако статистически значимых различий получено не было.



**Рис. 6 – Динамика ИС реактивности базофилов после стимуляции аллергеном у пациентов с пылевой сенсibilизацией к сорным травам, получавших АСИТ**

В соответствии с задачами исследования мы рассмотрели ИС ВАТ у пациентов после первого курса АСИТ (через 3 месяца) в качестве возможного предиктора эффективности отдаленных результатов АСИТ (через 15 месяцев лечения). Вероятность эффективности АСИТ у пациентов с уменьшением ИС ВАТ (в 1,2 раза и более) составила 9,94 (95% CI:3,29-30,1),  $p<0,01$ .

Площадь под ROC кривой (AUC) равнялась 0,75, что свидетельствовало о хорошем качестве модели. Показатели чувствительности Se (%) соответствовали 80,6%, специфичности Sp (%) – 70,6%, положительной предсказательной ценности PPV (%) – 74,4%, отрицательной предсказательной ценности NPV (%) – 77,4%.

Таким образом, показатели специфических IgE к мажорным аллергенам амброзии (*nAmb a1*) и полыни (*nArt v1*), а также коэффициенты IgE спец. *nAmb a1* / IgE общ. и IgE спец. *nArt v1* / IgE общ. не изменяются под влиянием аллерген-специфической иммунотерапии. Статистически значимое уменьшение спонтанной реактивности базофилов наблюдается только после второго курса АСИТ. Снижение индуцированной аллергеном активации базофилов отмечается в 67,4% проб после первого курса АСИТ и в 67,6% проб – после второго. Уменьшение индекса стимуляции ВАТ (ИС ВАТ) выявляется преимущественно у пациентов с положительными результатами лечения. Тест активации базофилов с аллергенами пыльцы, выполненный через 3 месяца после начала соответствующей АСИТ, может быть использован в качестве раннего предиктора ее эффективности. Отсутствие динамики активации базофилов у отдельных пациентов может указывать на неадекватный ответ на АСИТ, необходимость терапевтических модификаций – увеличение поддерживающей дозы, длительности лечения или добавления коадьювантных препаратов, таких как омализумаб.

## ВЫВОДЫ

1. У 81,7% больных с аллергией к пыльце сорных трав в Ставропольском крае определяются специфические IgE к мажорному аллергену амброзии *nAmb a1*, у 26,7% – к мажорному аллергену полыни. В структуре профилей сенсibilизации на долю *nAmb a1*+ *nArt v1*- приходится 38,3%, *nAmb a1*+ *nArt v1*+ – 43,4%, *nAmb a1*- *nArt v1*+ – 5%, *nAmb a1*- *nArt v1*- – 13,3%.

2. При выборе аллерген-специфической терапии на основании кожных проб вероятность ошибок в группе с моносенсibilизацией к амброзии составляет 8,3%, олигосенсibilизацией к амброзии и полыни – 33,3%, полисенсibilизацией к пыльце деревьев, луговых и сорных трав – 58,3%. При этом у 10,0% больных программа АСИТ не соответствует профилю сенсibilизации, у 6,7% – не охватывает весь спектр сенсibilизирующих аллергенов, у 26,7% – является избыточной.

3. У пациентов, сенсibilизированных к сорным травам, наблюдается увеличение спонтанной и индуцированной аллергеном реактивности базофилов, что коррелирует с уровнем специфических антител к мажорным белкам амброзии и полыни.

4. Положительный эффект после первого курса АСИТ наблюдается у 67,3% пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав, после второго курса – у 76,7%, что сопровождается положительной динамикой клинических симптомов.

5. Показатели специфических IgE к мажорным аллергенам амброзии (*nAmb a1*) и полыни (*nArt v1*), а также коэффициенты IgE спец. *nAmb a1* / IgE общ. и IgE спец. *nArt v1*

/ IgE общ. не изменяются под влиянием АСИТ и не могут быть использованы в качестве ранних предикторов ее эффективности.

6. Через 15 месяцев после начала аллерген-специфической иммунотерапии в 69,8% проб отмечается уменьшение спонтанной реактивности базофилов, в 67,6% – реактивности базофилов, индуцированной аллергеном. Раннее снижение средних показателей ВАТ взаимосвязано с положительными результатами АСИТ, что позволяет использовать ВАТ в качестве маркера эффективности АСИТ.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для определения оптимальной программы АСИТ у пациентов с полисенсibilизацией к сорным травам рекомендовано использовать определение специфических IgE методом молекулярной аллергодиагностики или тест активации базофилов, индуцированный аллергеном.

2. У пациентов с пылевой аллергией при планировании АСИТ тест активации базофилов (ВАТ) рекомендуется применять в качестве арбитражного при:

а) невозможности определения специфических IgE к мажорным и минорным аллергенам методом молекулярной аллергодиагностики;

б) несоответствии кожных проб и показателей специфических IgE;

с) при подозрении на локальный аллергический ринит.

3. Снижение ИС ВАТ в пробе с аллергеном в 1,2 раза и более через 3 месяца после начала соответствующей АСИТ может быть использовано в качестве раннего предиктора ее эффективности с уровнем чувствительности 80,6%, специфичности – 70,6%, положительной – 74,4% и отрицательной – 77,4% предсказательной ценности.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Применение нескольких концентраций аллергенов в реакции ВАТ в дальнейшем, а также сопоставление результатов ВАТ с другими биомаркерами (количество Th2, содержание сывороточных антител к мажорным аллергенам сорных трав) позволит более точно оценить информативность ВАТ в качестве возможного предиктора эффективности АСИТ, что обеспечит персонализированный подход к аллерген-специфической терапии.

### **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:**

1. Клинические и лабораторные критерии эффективности аллерген-специфической терапии / Е.Ю. Харитоновна, **Л.В. Душина**, М.М. Минасян [и др.] // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции педиатров, неона-

талогов и детских реаниматологов «Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской реаниматологии» – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2019. – С. 162-166.

2. Компонентная диагностика как предиктор эффективности аллергенспецифической терапии у детей / **Л.В. Душина**, Е.Ю. Харитоновна Е.Ю., М.М. Минасян [и др.] // Национальная ассоциация ученых. Проблемы Медицинских наук. - 2019. – Вып. 50. - Т. 1. – С. 44-47. doi.10.31618/nas.2413-5291.2019.1.50.106

3. **Душина, Л.В.** Эффективность аллергенспецифической иммунотерапии у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав /Л.В. Душина, Л.Ю. Барычева, Ю.Н. Медведенко // Наука и инновации – современные концепции: сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума (г. Москва, 30 декабря 2020 г.) / отв. ред. Д.Р. Хисматуллин. – Москва: Изд-во Инфинити, 2020. – С. 65-71.

4. **Душина, Л.В.** Значение компонент-разделенной молекулярной аллергодиагностики при аллергенспецифической иммунотерапии у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав / Л.В. Душина, Л.Ю. Барычева, А.Д. Кончевская // Высшая школа: научные исследования. Материалы Межвузовского международного конгресса (г. Москва, 24 декабря 2020 г.). - Т. 1. – Москва: Издательство Инфинити, 2020. – С. 48-53.

5. **Душина, Л.В.** Молекулярная аллергодиагностика и оптимизация аллергенспецифической иммунотерапии при сенсibilизации к пыльце сорных трав / Л.В. Душина, Л.Ю. Барычева, М.М. Минасян // **Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. - Т. 15. – № 3. – С. 422-423. DOI:10.14300/mnnc.2020.15100**

6. Барычева, Л.Ю. Диагностическая ценность теста активации базофилов при сенсibilизации к аллергенам сорных трав / Л.Ю. Барычева, **Л.В. Душина**, М.М. Минасян // **Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. - Т. 15 – № 4. – С. 479-483. DOI:10.14300/mnnc.2020.15112**

7. Динамика реактивности базофилов у пациентов с аллергическим ринитом на фоне аллерген-специфической иммунотерапии / Л.Ю. Барычева, **Л.В. Душина**, М.В. Голубева, М.М. Минасян, Ю.Н. Медведенко // **Российский аллергологический журнал. - 2020. - Т. 17. - № 4. – С. 75-84. DOI:10.36691/RJA1410**

8. Иммунологические маркеры аллерген-специфической иммунотерапии у пациентов, сенсibilизированных к пыльце сорных трав / **Л.В. Душина**, Л.Ю. Барычева, Ю.Н. Медведенко, В.В. Кузнецова // Наука и инновации – современные концепции: сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума (г. Москва, 15 января 2021 г.) / отв. ред. Д.Р. Хисматуллин. – Москва: Изд-во Инфинити, 2021. - Т. 1. – С. 59-60.

9. Allergic rhinitis resulting from sensitization to weed pollen: clinical and laboratory features / **L.V. Dushina**, L.Y. Barycheva, M.M. Minasyan, L.S. Khachirova // International Independent Scientific Journal. - 2021. – № 23. – P. 3-5.

10. Барычева, Л.Ю. Изменение реактивности базофилов и синтеза специфических иммуноглобулинов класса Е при сенсibilизации к пыльце сорняков под влиянием аллерген-специфической иммунотерапии /Л.Ю. Барычева, **Л.В. Душина**, Ю.Н. Медведенко // **Аллергология и иммунология в педиатрии. - 2021. – Т. 63. – № 1. – С. 15-23.**

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АСИТ – аллерген-специфическая иммунотерапия

АР – аллергический ринит

ИС – индекс стимуляции

Косенсибилизация – истинная сенсibilизация к более, чем одному источнику аллергенов

Кросс-реактивность – перекрестная реактивность между аллергенными молекулами

МА – молекулярная аллергодиагностика

ОФВ1 – объем форсированного выдоха за первую секунду

Amb a1– аллергокомпонент амброзии

Ambrosia – амброзия

Artemisia – полынь

Art v1, 3 – аллергокомпоненты полыни

ARIA – аллергический ринит и его влияние на астму, международный согласительный документ (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)

BAT (Basophil activation test) – тест активации базофилов

Bet v1, 2, 4 – аллергокомпоненты березы

dMS – Daily medication score – шкала ежедневного учета приема лекарственных средств

EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) – Европейская академия Аллергологов и Клинических Иммунологов

ILC2 (type 2 innate lymphoid cells) – лимфоидные клетки врожденного иммунитета 2 типа

Prick-тест – кожный тест для диагностики аллергических реакций немедленного типа

Phleum – тимофеевка

RTSS (Rhinoconjunctivitis total symptom score) – шкала оценки клинических симптомов при аллергическом рините

IgE – иммуноглобулин Е

Phl p1, 2, 4, 5 – аллергокомпоненты тимофеевки

Prick-тест – кожный тест уколом для диагностики аллергических реакций немедленного типа