



¹ Российская
медицинская
академия
последипломного
образования

² Московская
городская
клиническая
больница № 52

Молекулярная диагностика – новый диагностический инструмент при назначении АСИТ

Д.С. Фомина¹, Е.Н. Бобрикова²

Адрес для переписки: Дарья Сергеевна Фомина, daria_fomina@mail.ru

Молекулярная диагностика открывает возможности дифференцированного определения истинной и перекрестной реактивности, что имеет огромное клиническое значение не только для диагностики подлинного спектра сенсибилизации и обоснованного выбора патогенетической терапии, но и для прогноза рисков, связанных с проведением терапии аллергенами, а именно системных реакций и проявлений анафилаксии.

Ключевые слова: *аллергенспецифическая иммунотерапия, молекулярная диагностика, сенсибилизация, специфические IgE, сублингвальные рекомбинантные аллергены*

Введение

Сегодня можно с уверенностью сказать, что диагностический арсенал врача-аллерголога пополнился концептуально новым методом – молекулярной диагностикой (МД). В ее основе лежит рутинный способ определения уровня специфических IgE-антител. Но не к цельным аллергенам (экстрактам), а к их множественным белковым составляющим. Компоненты аллергенов могут быть классифицированы как семейства белков исходя из их функций и структуры. История развития МД в аллергологии насчитывает не одно десятилетие, и только последние годы этот метод с доказанной обоснованностью и информативностью занял прочное место в аллергологическом обследовании.

Основным алгоритмам практического применения МД посвящен ряд литературных обзоров. На практическую значимость метода указал более 16 лет назад профессор R. Valenta в своей первой основополагающей публикации [1]. В настоящее время в распоряжении специалистов имеется международный согласительный документ по молекулярной диагностике WAO/ARIA/GALEN, в котором дано определение метода и изложены основные аспекты его возможного использования. Русский перевод документа опубликован в приложении к «Российскому аллергологическому журналу» и является методическим пособием по МД для клиницистов [2]. Без сомнения, проведение МД позволит оптимизировать назначение

аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

Как показал анализ мнения лечащих врачей, дополнительные обследования 450 полисенсибилизированных пациентов в рамках эпитопной диагностики позволили в 20% случаев разрешить спорные клинические ситуации [3]. Та же аналогия отмечалась в исследовании, проведенном J. Sastre и соавт., с участием 141 пациента. Примерно 60% больных продемонстрировали совпадение между стандартной и молекулярной диагностикой, что способствовало рациональной коррекции выбора АСИТ у большого числа пациентов [4].

Есть ряд указаний на целесообразность подобной диагностики на этапе анализа нежелательных явлений и уточнения характеристик триггера, вызвавшего определенную реакцию. Так, местные и системные реакции чаще наблюдаются у пациентов с сочетанной сенсибилизацией к Phl p1 + Phl p5 [5].

P. Schmid-Grendelmeier при анализе 737 пациентов с атопией, получавших АСИТ, установил, что наилучшего клинического результата достигли пациенты с истинной сенсибилизацией. У большого процента пациентов с сенсибилизацией в рамках перекрестных реакций на компоненты не зафиксировано удовлетворительного ответа [6, 7].



Выявление спектра сенсibilизации, формулировка диагноза и назначение АСИТ значительно усложняются, если по результатам традиционных методов аллергологического специфического обследования выявляется полисенсibilизация и клинико-анамнестические данные недостаточно информативны.

Согласно статистическим данным, пациенты с моносенсibilизацией встречаются гораздо реже. Во многих ситуациях мультиположительные результаты, полученные при использовании стандартных методик, могут быть связаны с наличием в экстрактах диагностических аллергенов перекрестных молекул (паналлергенов). Профилины, полькальцины и PR-белки часто выявляются в различных экстрактах. Например, у пациента с сенсibilизацией к злаковым травам из-за содержания профилинов и полькальцинов в большинстве пыльцевых экстрактов может иметь место положительная реакция на пыльцу березы [8].

Для практического врача важен безошибочный выбор причинно-значимого лечебного аллергена на основе доказанной истинной или перекрестной сенсibilизации. Сформулированные в большинстве клинических исследований выводы подтверждают, что МД прочно занимает третью позицию в последовательности комплексного аллергологического обследования у пациентов с полисенсibilизацией [2].

Индивидуальная карта с последующим обоснованным и безопасным назначением АСИТ – единственный метод, способный повлиять на причину заболевания. Он идеально вписывается в концепцию персонализированной медицины.

Помимо данных, полученных в крупных когортных исследованиях, необходимо накапливать клинические наблюдения для наглядной демонстрации процесса анализа результатов МД и их практического применения.

У практикующего врача сложности, связанные с интерпретацией результатов исследования, могут начаться уже с номенклатуры из-за отсутствия привычных названий экстрактов аллергенов. При расширенном обследовании специалист получает зашифрованный ребус, требующий детального анализа. Некоторые клиники и лаборатории для удобства разрабатывают стандартные наборы тестов, ориентированные на определенные нозологии для внутреннего использования, что позволяет упростить трактовку полученных результатов.

Рассмотрим клинические случаи из нашей практики. Мы постарались проиллюстрировать значимые для рутинной работы аллерголога моменты, касающиеся информативности применения МД в случае назначения АСИТ. При ретроспективном анализе с дополнительным обследованием семи пациентов с развитием системной реакции на фоне проведения АСИТ водно-солевыми аллергенами полыни результаты МД в пяти клинических случаях показали высокий уровень минорных стабильных компонентов полыни w233(nArt v3). Это согласуется с результатами когортных исследований, свидетельствующими о повышенном уровне риска анафилаксии при проведении АСИТ у пациентов с возможной перекрестной сенсibilизацией. Немногочисленные наблюдения косвенно указывают на необходимость определенной осторожности в случае проведения АСИТ при наличии у пациента высоких показателей сенсibilизации к стабильным минорным компонентам.

Клинический случай 1

Пациент А., 48 лет. Обратился с жалобами на эпизодически возникающие в конце июля – августа чихание, слезотечение, зуд в носу. Проявления особенно усиливались во время командировок в южные регионы России. При более детальном опросе выявлен поздний дебют

Таблица 1. Специфические IgE к аллергенам

Исследование	Результат	Единицы измерения
Береза, рекомбинантный компонент t215 (rBet v1 PR-10)	1,57	kU/L
Береза, рекомбинантный компонент t221 (rBet v2 rBet v4)	2,66	kU/L
Амброзия, нативный компонент w230 (nAmb a1)	0,00	kU/L
Полынь, нативный компонент w231 (nArt v1)	25,00	kU/L
Полынь, нативный компонент w233 (nArt v3)	4,00	kU/L

проявлений. Перечисленные симптомы беспокоили пациента в течение нескольких лет. У аллерголога не наблюдался, принимал самостоятельно антигистаминные препараты, интраназальные топические глюкокортикостероиды с положительным эффектом. Последний сезон больного беспокоили присоединившиеся приступы ночного удушья. Круглогодичные симптомы отрицает. Однако при употреблении в пищу орехов на фоне обострения ринита в последний сезон зафиксированы выраженное першение в горле и отечность мягкого неба. Примечательно, что термически обработанные (жареные) орехи подобных симптомов не вызывали. Осенью 2015 г. при скарификационном кожном обследовании выявлена сенсibilизация к пыльце полыни, амброзии и березе в отсутствие сезонных жалоб на ринит и конъюнктивит во время пыления деревьев.

Для уточнения истинного спектра сенсibilизации и решения вопроса о назначении аллерген-специфического лечения было проведено дополнительное обследование с определением специфических IgE к аллергокомпонентам березы, амброзии и полыни на аппарате Phadia 250. Результаты обследования представлены в табл. 1.

Интерпретация результатов:

- ✓ менее 0,35 – антитела отсутствуют (класс 0);
- ✓ 0,35–0,70 – низкий уровень антител (класс I);



Таблица 2. Специфические IgE к аллергенам

Исследование	Результат	Единицы измерения
<i>Пыльца деревьев</i>		
Береза, рекомбинантный компонент t215 (rBet v1 PR-10)	0,00	kU/L
Береза, рекомбинантный компонент t221 (rBet v2 rBet v4)	0,65	kU/L
<i>Пыльца трав и злаковых</i>		
Тимофеевка луговая, рекомбинантный компонент g213 (rPhl p1, rPhl p5b)	31,00	kU/L
Тимофеевка луговая, рекомбинантный компонент g214 (rPhl p7, rPhl p12)	1,70	kU/L

- ✓ 0,70–3,50 – умеренный уровень антител (класс II);
- ✓ 3,50–17,5 – повышенный уровень антител (класс III);
- ✓ 17,5–50,0 – высокий уровень антител (класс IV);
- ✓ 50,0–100 – очень высокий уровень антител (класс V);
- ✓ более 100 – экстремально высокий уровень антител (класс VI).

Окончательный диагноз: бронхиальная астма, атопическая форма, впервые выявленная. Поллиноз. Пыльцевая аллергия к пыльце полыни. Латентная сенсibilизация к пыльце березы. Перекрестная пищевая аллергия к орехам с клинической картиной орального синдрома.

В данном случае на основании результатов обследования подтверждена истинная сенсibilизация к полыни, что согласуется с клиническими симптомами заболевания. Выявлена латентная сенсibilизация к березе, не требующая лечения из-за отсутствия клинических проявлений. Симптомы пищевой аллергии, видимо, связаны с перекрестной реакцией на пыльцу березы. Этот факт косвенно подтверждается отсутствием реакций на термически обработанный продукт, поскольку истинные аллергены более устойчивы к температурной обработке. У больного целесообразно исключить феномен узнавания, то есть связывания IgE-антител и запуска иммунного ответа к похожим аллергенным молекулам (гомологам).

Например, IgE-антитела связываются и реагируют как с Bet v1 пыльцы березы, так и с Cor a1 лесного ореха из-за структурного сходства.

Отрицательный результат на выявление главного компонента амброзии, возможно, также обусловлен потенциальной реализацией положительной кожной реакции на компоненты аллергена и не требует лечения смесью аллергена. Применение монокомпонентного лечения снижает риск различных реакций. Если исследовать ответ на все молекулы, можно получить достаточно репрезентативный IgE-профиль. В данном случае из экономических соображений оценивался главный компонент амброзии, то есть одна молекула. Поэтому характеристика IgE-профиля была менее точной.

Таким образом, описательная точность IgE-профиля определяется тестами, назначенными врачом. Спектр был ограничен ввиду низкой распространенности амброзии в центральном регионе.

Клинический случай 2

Пациент С., 19 лет. После одного курса АСИТ сублингвальными рекомбинантными аллергенами злаковых трав с ранее подтвержденной кожной чувствительностью к пыльце березы и смеси злаковых трав симптомы ринита и конъюнктивита сохранялись с конца мая по конец июня. Ранее при назначении первого курса АСИТ сенсibilизация к березе была расценена как латентная. Пациент остался недоволен лечебным эффектом. По его оценке, временные границы старта симптомов сдвинулись на более ранние сроки. Юноше было предложено пройти эпителиальную диагностику для более детального уточнения спектра сенсibilизации и целесообразности продолжения последующих курсов АСИТ. Кроме того, при сомнительных данных анамнеза следовало уточнить характер сенсibilизации к березе. Результаты обследования представлены в табл. 2.

Интерпретация результатов:

- ✓ менее 0,35 – антитела отсутствуют (класс 0);
- ✓ 0,35–0,70 – низкий уровень антител (класс I);
- ✓ 0,70–3,50 – умеренный уровень антител (класс II);
- ✓ 3,50–17,5 – повышенный уровень антител (класс III);
- ✓ 17,5–50,0 – высокий уровень антител (класс IV);
- ✓ 50,0–100 – очень высокий уровень антител (класс V);
- ✓ более 100 – экстремально высокий уровень антител (класс VI).

Была подтверждена истинная сенсibilизация к компонентам rPhl p1 и rPhl p5, на минорные участки rPhl p7 и 12 получен умеренно высокий уровень показателей. Кроме того, был выявлен низкий уровень специфических IgE к rBet v2 и rBet v4 и отрицательный к Bet v1, что исключало истинную сенсibilизацию к березе и целесообразность проведения АСИТ к данному виду сенсibilизации.

Клинические проявления в сезон цветения деревьев могут быть связаны с перекрестными свойствами профилинов Bet v2, Phl p12, а также кальций-связывающих белков Bet v4 и Phl p7, а не с истинной сенсibilизацией к ним. Кожная чувствительность может быть обусловлена именно компонентами экстракта.

Пациенту предложили продолжить лечение рекомбинантным аллергеном злаковых трав. Подготовлены рекомендации, касающиеся элиминационных мероприятий.

Заключение

Вместе с традиционным диагностическим алгоритмом, включая подробный аллергоанамнез, используется ряд методов кожного тестирования, выполняются провокационные тесты и определяются специфические IgE в сыворотке крови. Молекулярная диагностика делает возможным измерение IgE-антител к определенным компонентам структуры аллергена.

По сравнению с другими методами специфического тестиро-

ImmunoCAP[®]
ISAC



Инструмент будущего в аллергодиагностике

Уже сегодня!

реклама

Phadia



вания основной проблемой на пути более масштабного внедрения МД представляется сложная схема интерпретации, которую в каждом случае аллергологу придется решать при получении анализа.

Конечно, преждевременно рассматривать МД как метод, всецело заменяющий традиционное аллергологическое обследование. Скорее МД можно считать высокоинформативным дополнением к индивидуальному подходу в аллергологической практике с целью более точной диагностики, способствующим более точечным терапевтическим и элиминационным назначениям. Например, применение МД в диагностических аллергологи-

ческих алгоритмах у кандидатов на проведение АСИТ способно решить ряд вопросов, связанных с выбором метода, типа аллергена, риском нежелательных явлений, а также помочь разработать индивидуальную элиминационную схему, что позволит оптимизировать и концептуально поменять подходы к АСИТ [9–11].

Возможности МД не ограничиваются оптимизацией процессов АСИТ. Это активно развивающееся научное направление затрагивает такие аспекты аллергологии, как пищевая и лекарственная аллергия. Свою нишу практического применения метод получил при аллергических заболеваниях кожи, перспективном направлении сенсibilизации к эпидермаль-

ным аллергенам. Открываются новые структурные и функциональные особенности различных белков-компонентов, что может сыграть важную роль при оценке риска развития аллергической реакции на разные аллергены.

В будущем использование надежных биомаркеров в диагностике аллергических заболеваний может стать определяющим при рассмотрении иммунотерапии в контексте таргетной персонализированной терапии.

Высокая скорость обновлений и получение актуальных данных по указанному научному направлению требуют от специалистов постоянного совершенствования знаний и владения информацией. 🌟

Литература

1. Valenta R., Lidholm J., Niederberger V. et al. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT) // Clin. Exp. Allergy. 1999. Vol. 29. № 7. P. 896–904.
2. Canonica G.W., Ansotegui I.J., Pawankar R. et al. A WAO – ARIA – GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics // World Allergy Organ. J. 2013. Vol. 6. № 1. ID17.
3. Passalacqua G., Melioli G., Bonifazi F. et al. The additional values of microarray allergen assay in the management of polysensitized patients with respiratory allergy // Allergy. 2013. Vol. 68. № 8. P. 1029–1033.
4. Sastre J., Landivar M.E., Ruiz-García M. et al. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area // Allergy. 2012. Vol. 67. № 5. P. 709–711.
5. Sastre J., Rodríguez F., Campo P. et al. Adverse reactions to immunotherapy are associated with different patterns of sensitization to grass allergens // Allergy. 2015. Vol. 70. № 5. P. 598–600.
6. Schmid-Grendelmeier P. Pollen allergy and immunotherapy // Ther. Umsch. 2012. Vol. 69. № 4. P. 239–248.
7. Schmid-Grendelmeier P. Recombinant allergens. For routine use or still only science? // Hautarzt. 2010. Vol. 61. № 11. P. 946–953.
8. Santos A., Van Ree R. Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? // Int. Arch. Allergy Immunol. 2011. Vol. 155. № 3. P. 191–204.
9. Borres M.P., Ebisawa M., Eigenmann P.A. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology // Pediatr. Allergy Immunol. 2011. Vol. 22. № 5. P. 454–461.
10. Ferrer M., Sanz M.L., Sastre J. et al. Molecular diagnosis in allergology: application of the microarray technique // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 2009. Vol. 19. Suppl. 1. P. 19–24.
11. Lidholm J., Ballmer-Weber B.K., Mari A., Vieths S. Component-resolved diagnostics in food allergy // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2006. Vol. 6. № 3. P. 234–240.

Molecular Diagnostics – a Novel Diagnostic Tool Upon Administering Allergen-Specific Immunotherapy

D.S. Fomina¹, Ye.N. Bobrikova²

¹ Russian Medical Academy of Postgraduate Education

² Moscow Municipal Clinical Hospital № 52

Contact person: Darya Sergeyevna Fomina, daria_fomina@mail.ru

Molecular diagnostics opens up opportunities for differential detection of genuine and cross reactivity, which is of great clinical importance not only for diagnostics of true sensitization range and justified selection of pathogenetic therapy, but for forecasting risks related to allergen-based therapy, namely systemic reactions and anaphylactic manifestations.

Key words: allergen-specific immunotherapy, molecular diagnostics, sensitization, specific IgE, sublingual recombinant allergens