

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ

АЛЛЕРГИЯ. МЕДИАТОРНЫЙ ТИП ГИТ. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Учебно-методическое пособие



Минск БГМУ 2009

УДК 616–056.3–071 (075.8)
ББК 52.5 я 73
А 51

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве
учебно-методического пособия 28.01.2009 г., протокол № 5

Авторы: канд. мед. наук., доц. Д. А. Черношей; канд. мед. наук., доц. Е. Ю. Ки-
рильчик; д-р мед. наук, проф. Л. П. Титов; канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова

Рецензенты: руководитель научной группы «Иммунология» ЦНИЛ БГМУ,
канд. мед. наук И. Е. Гурманчук; зав. каф. аллергологии и профпатологии, канд. мед.
наук, доц. Т. В. Барановская

Аллергия. Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики : учеб.-метод. посо-
А 51 бие / Д. А. Черношей [и др.]. – Минск : БГМУ, 2009. – 31 с.

ISBN 978–985–462–969–8.

Отражены вопросы классификации, иммунопатогенеза медиаторного типа ГНТ. Подробно
рассматриваются характеристики, схемы постановки и применения современных методов диаг-
ностики.

Предназначено для студентов 2-го курса всех факультетов.

УДК 616–056.3–071 (075.8)
ББК 52.5 я 73

ISBN 978–985–462–969–8

© Оформление. Белорусский государственный
медицинский университет, 2009

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГНТ — гиперчувствительность немедленного типа
РИА — радиоиммунный анализ
РАСТ — радиоаллергосорбентный тест
ИФА — иммуноферментный анализ
МАСТ — множественный аллергосорбентный тест
СИТ — специфическая иммунотерапия (десенсибилизация)
МНС — главный комплекс гистосовместимости
АПК — антигенпрезентирующие клетки
ГЗТ — гиперчувствительность замедленного типа
ИЛ — интерлейкин
ТСR — Т-клеточный рецептор
CD — кластер определения
ЕСР — катионный белок эозинофилов
ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
UniCAP, ImmunoCAP — тест-система для определения специфического IgE (общепринятый стандарт)
CAST — тест стимуляции клеток аллергеном
FAST — тест стимуляции (клеток) аллергеном флуориметрический
Th1, 2, 3 — Т-хелперы 1, 2 и 3-го типов
РПГ — реакция повреждения гранулоцитов
ППН — показатель повреждения нейтрофилов
ИФН γ — интерферон-гамма
IgE — иммуноглобулин класса E

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что аллергические болезни известны человеку более двух с половиной тысяч лет, проблема аллергии далека от разрешения и с каждым годом привлекает все более пристальное внимание врачей разных специальностей.

В Европе аллергией страдает каждый третий ребенок (по данным European Allergy White Paper, 1999), распространение аллергопатологии в России и странах СНГ колеблется от 15 до 35 % (International Study of Asthma and Allergy in Childhood).

В Республике Беларусь наблюдается стабильный медленный рост основных аллергических заболеваний (атопический дерматит, ринит, бронхиальная астма и др.). Причем их частота на территории, пострадавшей от аварии на ЧАЭС, после пика в 1996–1998 гг. постепенно стабилизируется (снижается) и в настоящее время сравнима со средней по республике. В возрастной структуре заболеваемости доминирует детский возраст, а рост заболеваемости среди детей особенно высок (увеличился на 13–20 % за последние 10 лет) (Л. П. Титов, 2008).

Понятие «**аллергия**» (allos — иной, ergon — действие) было предложено в 1906 г. австрийским педиатром Клеменсом фон Пирке (Clemens von Pirquet) для определения состояния измененных реакций организма на воздействие различных веществ.

В современной медицине понятие «аллергия» определяется как патологическое состояние повышенной реакции организма на неопасные вещества различной природы, в основе которой лежат иммунологические механизмы. Существует также более узкая трактовка понятия, согласно которой к аллергии относят только IgE-опосредованные состояния.

Аллергия — тип иммунного ответа, при котором повторное поступление антигенов в сенсibilизированный организм сопровождается развитием воспаления, повреждением клеток и тканей, дисфункцией органов и систем.

Аллерген — антиген определенного типа, вызывающий сенсibilизацию у чувствительного (атопического) к нему организма. Им может оказаться любое вещество белковой и небелковой, органической или неорганической природы.

Различают эндогенные и экзогенные аллергены. К первым относятся аутоантигены белковой, липопротеидной и нуклеопротеидной природы, а также комплексные аллергены. Вторые, в свою очередь, разделяют на аллергены инфекционной и неинфекционной природы.

К аллергенам инфекционной природы относятся бактериальные, вирусные, грибковые, протозойные и гельминтные аллергены.

Неинфекционными являются:

- аллергены животного происхождения (компоненты клеток и тканей);
- экстракты рыб и ракообразных;
- продукты жизнедеятельности насекомых (инсектные);
- бытовые (косметические и моющие средства);
- пылевые (домашняя, библиотечная и производственная пыль);
- пыльцевые (пыльца растений);
- промышленные (лаки, краски, эпоксидные смолы, никель, хром, титан, кобальт, пестициды);
- пищевые (коровье молоко, яйца птиц, мясо, рыба, зерно злаковых);
- лекарственные (антибиотики, сульфаниламиды, анальгетики, нейрорепаранты, вакцины, сыворотки) аллергены.

Необходимо отметить, что в настоящее время достоверно неизвестны те свойства антигена, которые делают его аллергеном. Большое разнообразие аллергенов, а также сложные взаимоотношения генетических факторов и факторов внешней среды в процессе онтогенеза иммунной системы и развития иммунитета затрудняют исследования в данной области.

Большинство белковых аллергенов являются ферментами (протеазами, карбогидразами, рибонуклеазами, дегидрогеназами, трансферазами), ингибиторами ферментов, транспортными белками и регуляторными белками с низкой молекулярной массой.

Отдельные классы аллергенов (например, протеазы) могут, не вызывая воспаления, проникать через слизистые оболочки в ассоциированные лимфоидные ткани и прямо (через рецепторы для протеаз) активировать иммунокомпетентные клетки к выделению цитокинов Th2 типа. Таким образом, длительная экспозиция аллергенам приводит к формированию Th2 микроокружения в соответствующем органе (ткани) и способствует синтезу IgE не только против аллергенов-протеаз, но и против других веществ, ассоциированных с ними. Так, из 14 установленных аллергенов *D. pteronyssinus* (важный аллергический компонент пыли) 5 являются протеазами различных типов.

Аллергическая реакция имеет стадийное течение.

1. Сенсibilизация — состояние повышенной реактивности к аллергену. Развивается в ответ на его первичное воздействие, поддерживается последующими эпизодами экспозиции.

2. Разрешение — реализация соответствующего механизма аллергии в результате повторного попадания аллергена в организм. Как правило, сопровождается специфическими патологическими проявлениями.

Эта стадия может развиваться быстро, от нескольких секунд до 6 часов* (*гиперчувствительность немедленного типа — ГНТ*), или мед-

* Часто в реакции ГНТ выделяют раннюю и позднюю фазы (до 6 и до 24 ч соответственно).

ленно, в течение 48–72 часов (*гиперчувствительность замедленного типа — ГЗТ*).

3. Десенсибилизация — возврат к нормальному реагированию. Возможна при длительном отсутствии контакта и элиминации из окружения аллергена или при лечении (СИТ). В истинном понимании маловероятна, поскольку для этого потребуется изменить микроокружение, функцию АПК в соответствующих органах (тканях), а также устранить клетки памяти, которые быстро формируют ответ аллергического типа на анамнестические или ассоциированные с ними аллергены.

Гиперчувствительность — состояние чрезмерной, неадекватной активности иммунной системы (иммунный ответ, неспецифическая активация иммунологических механизмов), приводящее к повреждению организма (рис. 1).

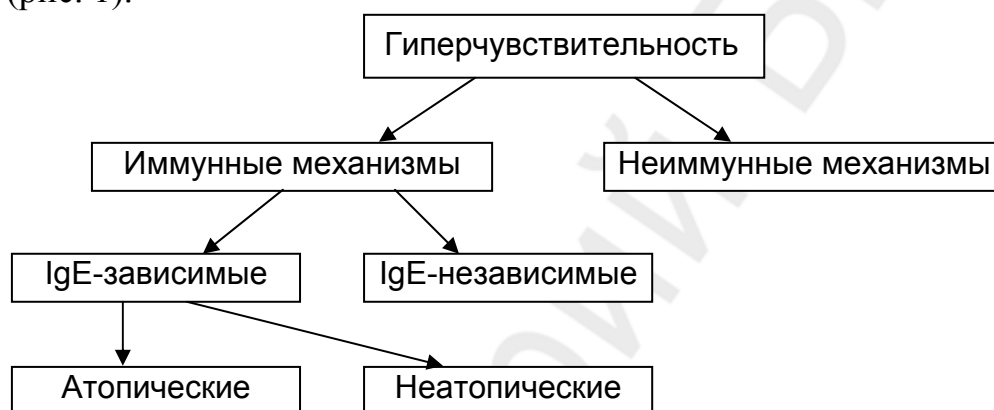


Рис. 1. Современная классификация гиперчувствительности по патогенетическому механизму

По преобладающему механизму (классификация по P.Gell и R. Coombs) различают несколько типов гиперчувствительности (I–IV):

- тип I — немедленного, IgE-зависимого, медиаторного типа;
- тип II — немедленного, цитотоксического типа;
- тип III — немедленного, иммунокомплексного типа;
- тип IV — замедленного или T-клеточного типа.

В настоящее время выделяют также пятый тип, связанный со стимулирующей/блокирующей активностью антител в отношении гормонов (медиаторов) или их рецепторов.

ГНТ I МЕДИАТОРНОГО (РЕАГИНОВОГО) ТИПА

ГНТ I медиаторного (реагинового) типа — гиперчувствительность, развившаяся в результате сенсибилизации организма определенными аллергенами (пыль, пыльца растений, лекарственные препараты, пищевые аллергены, гаптены и др.) и реализующаяся посредством выделения

медиаторов и биоактивных веществ гранул тучных клеток и базофилов, а также секреции лейкотриенов, простагландинов и цитокинов активированными тучными клетками, эозинофилами и лимфоцитами. Необходимо отметить, что ГНТ медиаторного типа может реализовываться по IgE-зависимому или независимому механизму.

Стадия сенсibilизации (рис. 2).

Аллергены поступают в организм через респираторный, желудочно-кишечный тракт и кожу. Антигенпрезентирующие клетки захватывают, перерабатывают и представляют доминантные эпитопы наивным Т-клеткам (Th0). У лиц с атопией при этом происходит их дифференцировка в Th2, которые затем секретируют ИЛ-4 и ИЛ-13, и стимулируют В-лимфоциты к продукции аллергенспецифических антител IgE. Аллергенспецифические антитела, после попадания в циркуляторное русло, фиксируются на высокоаффинных Fc_ε-рецепторах I типа (Fc_εRI) тучных клеток и базофилов. Процесс образования аллергенспецифических антител регулируется балансом Th1/Th2-лимфоцитов, а также Т-регуляторами путем синтеза соответствующих цитокинов и контактных взаимодействий.

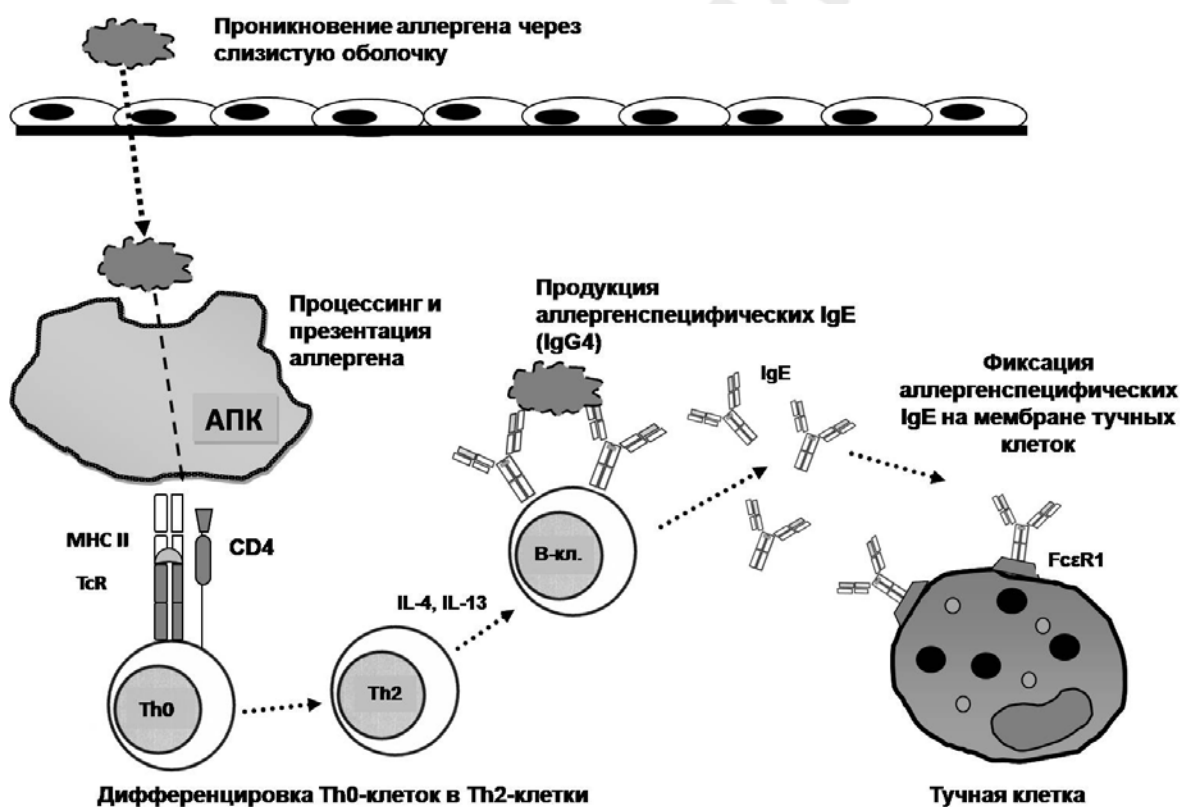


Рис. 2. Стадия сенсibilизации медиаторного типа ГНТ (IgE-зависимого): АПК — антигенпрезентирующая клетка; Th0-Th2 — Т-хелперы нулевого и второго типов; МНС II — молекулы гистосовместимости второго класса; TCR — Т-клеточный рецептор; IL — интерлейкин

Стадия разрешения развивается вследствие повторного поступления аллергена в организм и активации клеток-эффекторов ГНТ и подразделяется на три фазы (рис. 4):

1. Во время **иммунологической фазы** циркулирующий аллерген связывается локально или системно со специфическими IgE-антителами, фиксированными на мембране базофилов, тучных клеток. Важным моментом является одновременное связывание молекулой поливалентного аллергена нескольких IgE-антител, фиксированных на рецепторах. Это приводит к сближению нескольких рецепторов и формированию активационного сигнала (рис. 3).

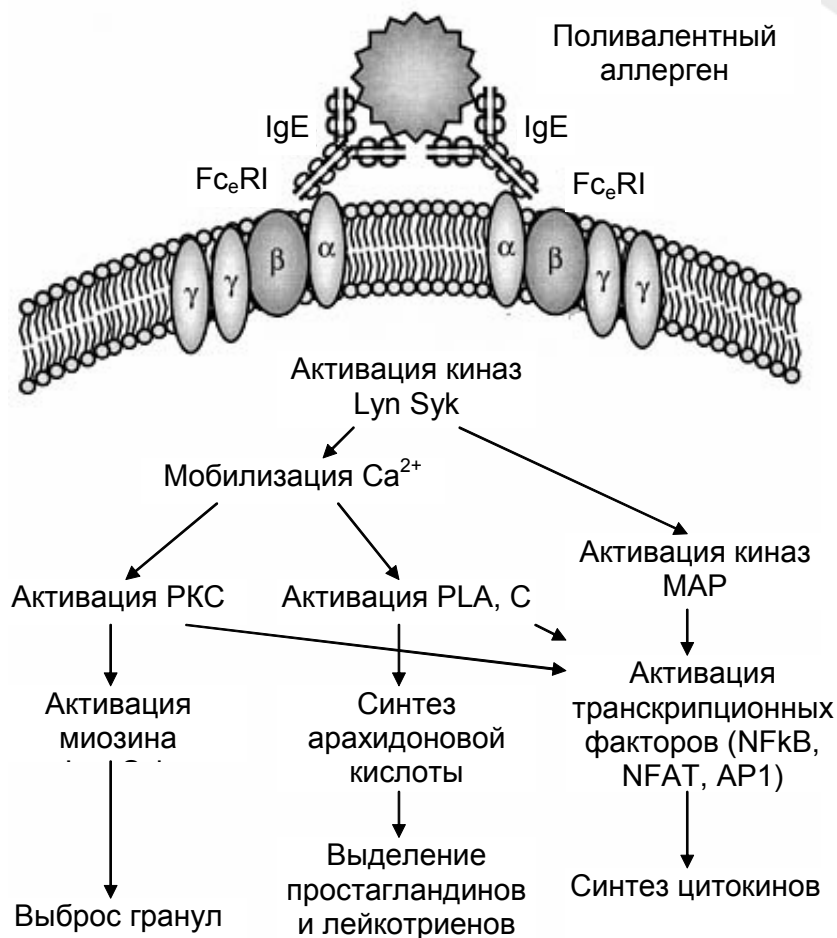


Рис. 3. IgE-зависимая активация тучной клетки:

Lyn, Syk — тирозиновые киназы, ассоциированные с бета- и гамма-цепями рецептора для IgE; PKC — протеинкиназа C; PLA₂, C — фосфолипаза A, C; MAP — митогенассоциированная киназа; NFκB, NFAT, AP-1 — транскрипционные факторы, необходимые для активации генов цитокинов

2. **Патохимическая фаза.** В течение нескольких минут происходит дегрануляция эффекторных клеток (тучные клетки, базофилы и др.), в результате чего содержимое цитоплазматических гранул (серотонин, гиста-

мин, гепарин, хондроитинсульфат, триптаза, химаз, пероксидаза и др.) высвобождается в межклеточное пространство и кровь (в цитоплазме эффекторных клеток содержится 100–300 специфических гранул).

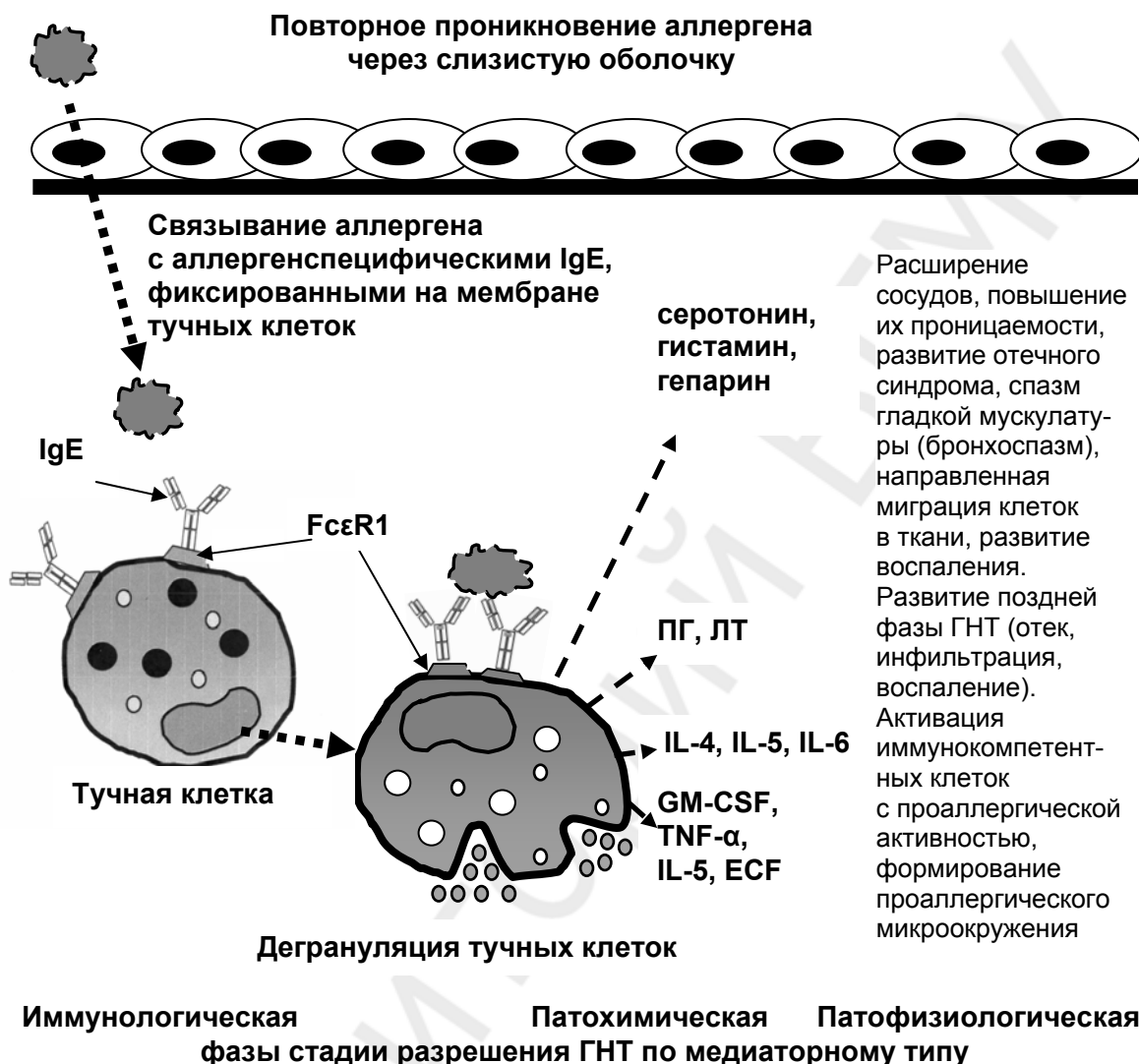


Рис. 4. Фазы стадии разрешения ГНТ по медиаторному типу:

ПГ — простагландины; ЛТ-лейкотриены; TNFα — фактор некроза опухолей альфа; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

3. Патофизиологическая фаза:

Ранняя фаза. Высвобождающиеся из клеток биологически активные медиаторы немедленной фазы связываются с рецепторами клеток-мишеней: эндотелия, гладких мышц сосудов, бронхов, кишечника, лейкоцитов, тромбоцитов, клеток НС и активируют их. При этом происходит развитие сосудистой (расширение сосудов, замедление кровотока, выход плазмы и крупномолекулярных белков в ткани с формированием отека) и клеточной (инфильтрация тканей лейкоцитами (нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы)) фаз воспаления. Кроме этого, в зависимости от локализации

процесса, может развиваться бронхоспазм, диарея, ринорея, и др. специфические симптомы.

Поздняя фаза. Активированные резидентные клетки (тучные клетки, тканевые макрофаги, фибробласты, гистиоциты) и клетки инфильтрата (эозинофилы, лимфоциты) синтезируют и секретируют медиаторы поздней фазы иммунного воспаления ГНТ (лейкотриены, простагландины, цитокины, ферменты), что приводит к развитию персистирующего отека, инфильтрации, повреждению и ремоделированию тканей. Клинически это проявляется длительным нарушением дыхания (нарушением проходимости бронхов и ВДП), склерозированием, фиброзом.

Процесс завершается развитием состояний *анафилаксии* или *атопии* разной локализации и степени выраженности. Синонимом термина «гиперчувствительность I типа» является термин аллергия.

Стадия десенсибилизации. Несмотря на теоретические и практические сложности с «возвратом к нормальной реактивности», существуют весьма полезные подходы к практическому применению методов, формирующих псевдонормальную реактивность. В частности, кажущееся восстановление нормальной реактивности возможно как истощение запаса медиаторов в тучных клетках и базофилах шокового органа. Существует методика введения заведомо опасных в плане ГНТ аллергенов по Безредко: аллерген вводится дробно, в очень малых дозах, обеспечивая подпороговую дегрануляцию тучных клеток без клинических проявлений. После этого можно ввести полную дозу препарата, не опасаясь проявления ГНТ. Понятно, что как только запасы медиаторов в гранулах тучных клеток восстановятся, состояние сенсibilизации также возвратится. Несколько иная, но похожая ситуация наблюдается при проведении специфической десенсибилизации (СИТ). Больным вводят малые дозы аллергена с адьювантами с целью выработки на него IgG, стимуляции клеточного ответа на данный аллерген (Th1) или возникновения толерантности (появления популяции Т-регуляторов, специфичных к данному аллергену). Как правило, реагирование по аллергическому механизму сохраняется, и при прекращении терапии сенсibilизация восстанавливается через несколько лет.

Атопия (термин предложен А. Соса и R. Cooke в 1923 г.) — локальные клинические проявления аллергических реакций гиперчувствительности I типа у генетически предрасположенных лиц. Характеризуется наследственно высоким уровнем биосинтеза IgE.

Примерно 25–30 % населения имеют признаки атопии. Однако не у каждого индивидуума с генетической предрасположенностью развивается аллергия. В развитии данного заболевания и проявлении клинической симптоматики у генетически предрасположенных (атопических) лиц важное значение имеет постоянная экспозиция аллергенам, которые стимули-

руют клетки иммунной системы к продукции IgE-антител, что приводит к формированию гиперреактивности.

К атопиям относят аллергический ринит, бронхиальную астму, экзему, крапивницу, сенную лихорадку.

Анафилаксия (от греч. *ana* — «обратный» и *phylaxis* — «защита», Ч. Рише, 1902) — системное проявление реакций ГНТ по медиаторному типу. Выброс медиаторов тучных клеток в системный кровоток может привести к анафилактическому шоку.

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Эффективность терапии и профилактики во многом определяется качеством диагностических мероприятий, направленных на выявление причин и факторов, способствующих возникновению, формированию и прогрессированию аллергических заболеваний. Методы диагностики аллергических заболеваний включают:

1. Сбор аллергоанамнеза (анамнеза болезни и жизни пациента).
2. Объективное обследование больного.
3. Данные инструментальных методов обследования (рентген, спирометрия, эндоскопия и т. д.).
4. Данные аллергологического тестирования *in vivo*.
5. Данные лабораторных исследований.
6. Данные эффективности назначенной терапии.

Аллергоанамнез

Аллергоанамнез — сведения о симптомах аллергического заболевания, факторах, его провоцирующих (семейная наследственность, экологические, профессиональные, сезонные и иные факторы), клиническом течении. Позволяет получить необходимую информацию и сделать обоснованное заключение об этиологии и патогенезе заболевания.

Особое внимание следует уделить выяснению следующих аспектов: а) когда (где) появляются симптомы и как долго они сохраняются; б) на какие аллергены из окружения пациента они проявляются; в) связаны ли они с физической нагрузкой, физическими факторами или курением; г) страдают ли атопическими заболеваниями сам больной и члены его семьи.

Важным методом диагностики и терапии аллергических заболеваний является **элиминация аллергенов** — прием, основанный на устранении аллергенов из окружения больного с целью предупреждения их повторного попадания в организм. Часто подобную информацию можно получить из анамнеза жизни и заболевания.

Аэроаллергены элиминируют путем частого проведения влажной уборки помещений, кондиционирования воздуха, использования антиаллергенного белья, подушек, мебели. Больным рекомендуется уехать на время (на период цветения растений) или сменить место жительства.

С целью элиминации пищевых аллергенов из рациона исключают аллергенные продукты, рекомендуют перейти на питание специальными безаллергенными диетическими продуктами, проводят энтеросорбцию.

При лекарственной аллергии следует исключить применение аллергенных и близких к ним по структуре препаратов.

Объективное обследование больного

Отек Квинке проявляется быстрым сильным отеком какой-либо части тела (ткани): чаще поражается лицо, реже — конечности, еще реже — остальные части тела. Отеки сопровождаются выраженной деформацией, зудом или болями. Спонтанно проходят за несколько часов. При распространении на ротоглотку или воздухоносные пути могут привести к гибели пациента.

Аллергический ринит (сенная лихорадка) проявляется чиханием, зудом в носу, ринореей, затруднением дыхания через нос (заложенностью носа). Часто отмечаются сочетанные поражения глаз (аллергический конъюнктивит).

Бронхиальная астма проявляется приступами (быстро развивающееся нарушение дыхания, обусловленное затруднением выдоха). Больные дышат шумно, поверхностно, задействуют вспомогательную мускулатуру. Постепенно приступ проходит, что сопровождается кашлем. Со временем приступы приводят к дистрофическим изменениям в органах и тканях, вследствие нарушения дыхания (гипоксии). Грудная клетка больных находится в состоянии вдоха, легочная ткань растянута, заведущена, развивается дыхательная недостаточность.

Крапивница проявляется возникновением полиморфной сыпи (пятна, папулы, волдыри, везикулы), интенсивного зуда, в тяжелых случаях — интоксикацией и лихорадкой.

Атопический дерматит (острый и хронический) проявляется кожными высыпаниями с интенсивным зудом, экссудацией, воспалением. При хронических формах постепенно развивается склерозирование кожи, шелушение и т. д. Данное заболевание часто встречается у детей до 5 лет и является предвестником развития аллергических поражений дыхательных путей (аллергический ринит и астма). Указанная прогрессия аллергии носит название концепции «аллергического марша».

Анафилактический шок — патологическое состояние, проявляющееся резким падением кровяного давления с нарушением сознания, аллергической сыпью, бронхоспазмом и/или поражением ЖКТ. Тяжелый

анафилактический шок является состоянием, угрожающим жизни, и может закончиться летальным исходом.

Методы диагностики *in vivo*

Несмотря на длительную историю аллергологии, до настоящего времени существуют полярные подходы к использованию тестов для диагностики аллергии. Согласно первому, аллергологические тесты не следует применять по ряду причин:

1. Опасность для больного (большинство тестов *in vivo*).
2. Невозможность стандартизации, плохая воспроизводимость:
 - применение сложных методик, основанных на косвенных иммунобиологических феноменах;
 - применение не охарактеризованных аллергенов (точнее сложных, не поддающихся анализу экстрактов, варьирующих от серии к серии);
 - дороговизна общепринятых методов обследования пациентов (оснащение, тест-системы, аллергены и т. д.) и постоянное стремление заменить их нестандартными, фактически неизученными «новыми» методами и замороженными тест-системами, «аллергенами» и т. д.
3. Слабая (недостаточно сильная) корреляция результатов большинства методов с клиническими параметрами заболевания.
4. Концепция аллергического марша и поливалентной аллергии.
5. Все еще недостаточные знания иммунопатогенеза аллергических заболеваний.

Большинство вышеперечисленных причин приводят к тому, что выбор схемы лечения, назначения и отмены определенных препаратов, формирование прогноза практически не зависят от результатов тестирования.

Второй подход предусматривает применение современных апробированных эффективных методов, характеризующихся высокой (приемлемой) стандартностью и воспроизводимостью. Это, в частности, важно в следующих случаях:

- при установлении диагноза аллергического заболевания в раннем детстве;
- дифференциальной диагностике аллергического/неаллергического заболевания;
- выборе рациональной тактики при лечении в отдельных случаях (сезонные поллинозы, сенсибилизация к аллергенам домашних животных, пищевым аллергенам и др.);
- проведении специфической десенсибилизации.

В настоящее время большинство обществ аллергологов признают необходимость рационального тестирования (*in vitro* и, с некоторыми ограничениями, *in vivo*) как компонента «good allergy practice».

Методы диагностики *in vivo* обладают высокой чувствительностью и специфичностью и часто являются золотым стандартом при диагностике аллергических заболеваний. Однако постановка этих методов связана с риском развития системных аллергических реакций (анафилактический шок) и потенциально может угрожать жизни больного. Проведение диагностики *in vivo* допускается только в специализированных лечебно-диагностических учреждениях.

Кожные пробы — широко используемые в практике аллергологии и клинической иммунологии тесты оценки состояния сенсибилизации к определенному аллергену *in vivo* (при положительном аллергологическом анамнезе). Наиболее часто они применяются с целью выявления аллергии немедленного типа и по своей сути представляют простой способ определения аллергенспецифических IgE. Различаются по способам введения антигена. Существуют аппликационные, скарификационные, внутрикожные пробы и прик-тесты. Имеют значение в сочетании с данными анамнеза, физикальных и лабораторных исследований.

Аппликационные пробы — способ проведения кожных проб, при котором растворы стандартизованных аллергенов наносят на специальный аппликатор (пластырь). Тесты выполняют на коже спины, предплечья. Результаты учитывают через 20–30 мин. Развивающаяся реакция оценивается следующим образом: в виде эритемы и отека — +, в виде папул — ++, с наличием волдыря — +++. Положительный результат аппликационных проб свидетельствует о наличии сенсибилизации организма индивидуума к тому или иному аллергену. Степень выраженности реакций коррелирует с активностью патологического процесса и тяжестью течения заболевания.

Аппликационные пробы можно применять для выявления аллергических реакций на пищевые, ингаляционные и др. аллергены, однако чаще они используются для диагностики контактной сенсибилизации на лекарственные препараты, химические аллергены, ионы металлов*.

Скарификационные пробы — способ проведения кожных проб, при котором каплю испытуемого аллергена наносят на обработанную спиртом кожу внутренней стороны предплечья и повреждают эпидермис под каплей, путем нанесения двух насечек скарификатором (опыт). Одновременно аналогичным образом проводят пробы с гистамином и физиологическим раствором (соответственно положительный и отрицательный контроли). Результат учитывают через 20–30 мин.

Скарификационные пробы широко применяются для выявления сенсибилизации организма при ГНТ I типа. Они характеризуются большей

* В настоящее время аппликационные пробы в основном применяют для диагностики контактной ГЗТ (T.R.U.E.-тест, пэтч-тест и др.).

чувствительностью и, к сожалению, большей опасностью развития системных аллергических реакций.

Внутрикожные пробы (классические) — способ проведения кожных проб путем введения аллергена внутрь кожи. В основе лежит локальная ответная реакция на введение аллергена сенсibilизированному индивиду, которая может развиваться по немедленному и замедленному типу реакций гиперчувствительности. Результаты реакции ГНТ регистрируют через 20–30 мин, а ГЗТ — через 48–72 ч. Внутрикожная проба в основном применяется для диагностики ГЗТ, а также для выявления дефицитов Т-клеточного звена иммунитета. Внутрикожная проба ставится путем инъекции в эпидермис 0,1 мл раствора аллергена. Типичным примером является проба Манту.

Прик-тесты — современный способ проведения внутрикожных проб для диагностики ГНТ. Специальную металлическую или пластиковую иглу с ограничителем погружают в раствор аллергена и прокалывают кожу на глубину 1 мм. В качестве позитивного контроля используют 10%-ный раствор гистамина, а негативного — растворитель. Результат учитывают через 15–20 мин путем измерения диаметра папулы в двух направлениях. При проведении скрининга или диагностики в случае отсутствия явных указаний на определенный аллерген часто приходится ставить прик-тесты на несколько аллергенов. Для упрощения и стандартизации процедуры применяют мультитестовый аппликатор — одноразовое устройство для одномоментной постановки кожных проб с аллергенами (рис. 5).

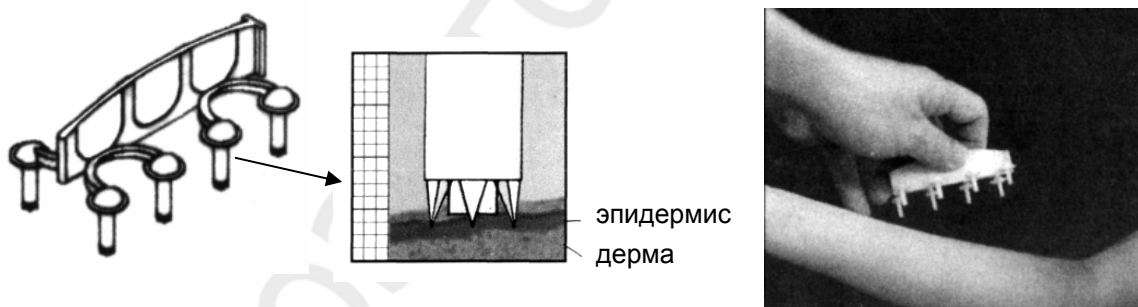


Рис. 5. Мультитестовый аппликатор и схема постановки прик-теста

Аппликатор состоит из пластикового основания, к которому в два ряда на определенном расстоянии крепятся металлические или пластиковые иглы (6–8 штук). До использования он находится в герметически закрытом контейнере и является стерильным. Перед употреблением аппликатор извлекается из контейнера, иглы окунаются на определенную глубину в растворы испытуемых аллергенов (пылевых, пыльцевых, пищевых или др.) и контрольных жидкостей. Затем аппликатор помещают на кожу предплечья и надавливают с определенным усилием. В результате

этого происходят прокалывание кожи и инъекция аллергенов. Результаты реакции учитывают в соответствии с общими рекомендациями. Они коррелируют с результатами внутрикожных проб, радиоаллергосорбентного теста и данными анамнеза. Мультикестовый аппликатор обеспечивает высокий уровень стандартизации кожных проб (глубину прокола кожи, расстояние между проколами, дозу аллергена).

Оценка кожных проб — этап аллергологического обследования пациента по результатам кожных проб. Результат кожных реакций немедленного типа учитывают через 15–20 мин. Он может быть: а) отрицательным — аналогичен контрольному; б) сомнительным (\pm) — наличие только гиперемии (без волдыря); в) слабоположительным (+) — наличие волдыря размером 3 мм; г) положительным (++) — наличие четко выраженного волдыря (до 5 мм); д) резкоположительным (+++) — наличие волдыря величиной не более 10 мм (с гиперемией и псевдоподиями); е) очень резко положительным (++++) — наличие волдыря величиной свыше 10 мм (с гиперемией и псевдоподиями).

Аллергические провокационные пробы — биологические пробы *in vivo*, позволяющие выявить у человека аллергию немедленного типа к определенному аллергену. Основаны на введении аллергена в орган-мишень. Являются более достоверными, чем кожные пробы и используются в случае расхождения данных анамнеза и результатов кожного тестирования.

Наиболее широко используются следующие пробы:

Назальная проба (проводится для диагностики аллергического ринита, сенной лихорадки, особенно при сомнительных результатах кожного тестирования): на слизистую одной из половин носа наносят каплю физиологического раствора (отрицательный контроль). Если через 15 мин на ней не возникает реакция, то на слизистую второй половины носа наносят каплю аллергена в концентрации, давшей сомнительный результат при кожном тестировании. Тест считается положительным при развитии отека слизистой, ринореи, чихания.

Ингаляционная проба проводится при отрицательных результатах кожных проб для диагностики профессиональной бронхиальной астмы на такие аллергены, как формальдегид, азотистый кобальт, бихромат калия, хлористый никель. Проба проводится на установке с замкнутым дыхательным контуром, которая создает небольшое избыточное давление на вдохе/выдохе. Это позволяет оценить степень и уровень спазма бронхолегочного дерева (для бронхиальной астмы характерен спазм мелких бронхов и бронхиол). Вначале проводят ингаляцию дистиллированной водой (контроль), а затем — испытуемым аллергеном. При появлении признаков бронхоспазма (система позволяет регистрировать их до развития симптомов астмы) аллерген выводится из дыхательной смеси, а больному оказывается необходимая помощь.

Ингаляционная проба с карбахолином (ацетилхолином) является диагностическим критерием бронхиальной астмы.

Ингаляционная проба с холодным воздухом применяется для исследования неспецифической гиперреактивности бронхов.

Сублингвальная проба используется для диагностики пищевой и лекарственной аллергии. Аллерген наносится на слизистую оболочку подъязычной области. При пищевой аллергии применяются натуральные продукты в разведении 1:10, при лекарственной — $\frac{1}{8}$ – $\frac{1}{4}$ разовой дозы растворенного вещества. Тест считается положительным при появлении в подъязычной области гиперемии, отека, зуда, а также при учащении пульса, чиханье, кашле.

Конъюнктивальная проба применяется для диагностики аллергического конъюнктивита и выявления аллергенов, вызывающих его развитие. Техника проведения такова: в конъюнктивальный мешок, отодвинув нижнее веко, закапывают 1–2 капли тест-контрольной жидкости. При отсутствии изменений конъюнктивы через 15–20 мин переходят к исследованию с аллергеном. Аллерген (1–2 капли) закапывают в концентрации, которая дала слабоположительную кожную пробу. При положительной реакции проявляются слезотечение, гиперемия конъюнктивы, зуд век.

Аллергометрическое титрование — постановка тестов с разным разведением аллергена. Используется в ряде случаев для определения пороговой чувствительности к определенному аллергену.

Методы диагностики in vitro

Диагностика аллергии по анализам крови — современное направление в аллергологии. В отличие от кожных проб и провокационных тестов анализы крови не приводят к развитию аллергических реакций у пациента, практически не имеют противопоказаний и рекомендуются при любой форме аллергии. Основными показаниями являются:

- ранний детский возраст;
- высокая степень сенсибилизации пациентов;
- непрерывно рецидивирующее течение заболевания без периодов ремиссии;
- невозможность отмены антигистаминных и других препаратов;
- поливалентная сенсибилизация, когда отсутствует возможность проведения тестирования in vivo сразу со всеми предполагаемыми аллергенами в ограниченные сроки обследования;
- резко измененная реактивность кожи;
- ложноположительный или ложноотрицательный результат при кожном тестировании;
- уртикарный дермографизм.

Основными преимуществами методов специфической диагностики *in vitro* являются:

- безопасность для больного;
- высокая стандартность и воспроизводимость;
- возможность количественного (цифрового) учета;
- возможность автоматизации;
- возможность проведения исследования в случае, когда пациент находится от аллерголога на большом расстоянии и доставлена лишь сыворотка больного;
- малое количество крови для исследования.

Современные методы, применяемые для *in vitro*-диагностики аллергических заболеваний, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Современные методы, применяемые для *in vitro*-диагностики аллергических заболеваний

Назначение теста	Принцип теста	Технология	Тест-системы
Выявление сенсибилизации к определенным аллергенам	Обнаружение антител класса Е к определенным аллергенам	Анти-IgE-антитела, сорбированные на твердой фазе, захватывают IgE из сыворотки крови больного. Далее захваченный IgE количественно определяется анти-IgE-антителами с соответствующей меткой	UniCap, ИФА, иммуноблот, аллерген-микроррей
Выявление медиаторов аллергического воспаления	Обнаружение: – гистамина; – триптазы; – лейкотриенов и простагландинов; – медиаторов эозинофилов (ECP)	То же	UniCap, ИФА
Выявление активации клеток-эффекторов ГНТ по медиаторному типу (поздняя фаза ГНТ)	Продукция лейкотриенов и простагландинов Экспрессия маркеров активации	То же Прямое выявление антигенов CD63, CD203с антителами, мечеными флуорохромом	CAST (FAST) Цитофлуориметрия

Методы определения уровня общего IgE в сыворотке крови

Концентрация IgE в сыворотке крови здоровых людей представлена в табл. 2.

При аллергических реакциях немедленного типа, как правило, отмечается повышение общего уровня IgE в сыворотке крови, однако в ряде случаев этот показатель может соответствовать норме. Тем не менее, установлено, что у грудных детей с высоким уровнем IgE риск развития

аллергии повышен. Атопическими заболеваниями страдают 95 % детей с высоким уровнем IgE. Примерно у 70% взрослых, больных экзогенной бронхиальной астмой и аллергическим ринитом, уровень IgE превышает норму на два стандартных отклонения. Особенно высокий (более 1000 МЕ/мл) уровень IgE отмечен при диффузном нейродермите и атопических заболеваниях органов дыхания.

Таблица 2

Концентрация IgE в сыворотке крови здоровых людей

Возрастная группа	Содержание IgE (кЕ/л)
Новорожденные	0–2
Дети: 3–6 месяцев	3–10
1 год	8–20
5 лет	10–50
10 лет	15–60
Взрослые	20–100

Высококочувствительными методами иммунологических исследований, позволяющими определять даже низкие концентрации IgE (менее 50 МЕ/мл) являются:

1. **Иммуноферментный анализ (ИФА).** Для количественного определения уровня общего IgE применяют твердофазный ИФА (рис. 6), при котором антитела к IgE сорбированы на твердом носителе, например, в лунках планшетов из полистирола. Образовавшийся при введении исследуемой сыворотки комплекс выявляют добавлением соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой хрена, бета-галактозидазой и или щелочной фосфатазой).

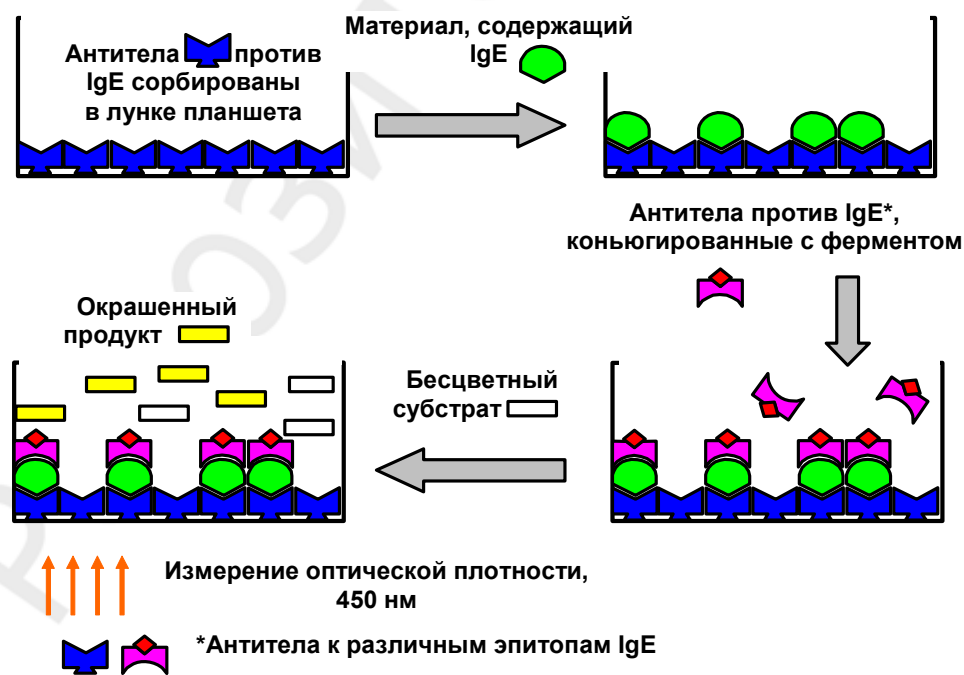


Рис. 6. Принцип постановки ИФА для определения IgE

После соединения антигена с меченной ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат/хромоген. Субстрат расщепляется ферментом и изменяется цвет продукта реакции; интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и меченых антител. При положительном результате изменяется цвет хромогена. Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют не связавшиеся реагенты путем промывания. Учет интенсивности реакций опытных и контрольных проб проводят на планшетном спектрофотометре (ИФА-ридере) по величине поглощения света с определенной длиной волны (для хромогена ТМБ (тетраметилбензидин) она составляет 450 нм).

2. Хемилюминесцентный («сэндвич») анализ с применением парамагнитной метки.

К сыворотке крови пациента добавляют анти-IgE-АТ, меченные люминесцентной меткой (эфиром акридина). После отмывки несвязавшихся антител добавляют анти-IgE-антитела, ковалентно связанные с парамагнитными частицами. Для учета необходимо специальное измерительное устройство, которое включает фотометр и электрод с магнитом. Магнит захватывает парамагнитные частицы, связанные с IgE-конъюгатами, в результате электрохимической реакции происходит люминесценция метки, которая измеряется фотометрически. Примерами таких устройств являются системы ACS:180 (Ciba Corning Diagnostics Corp.), NPD (Calgon Vestal Laboratories), Clorox (Clorox Company). Метод является высокочувствительным и позволяет определять концентрацию общего уровня IgE в диапазоне 1,5–3000 кЕ/л.

3. Радиоиммунный анализ (РИА) — метод, основанный на мечении одного из компонентов иммунологической реакции (антигена или антитела) радиоактивным изотопом I^{125} .

Для количественного определения уровня общего IgE применяют непрямой или конкурентный твердофазный РИА (на твердой фазе иммобилизованы захватывающие антитела против IgE человека). В последнем случае в систему одновременно вносят сыворотку пациента и определенное количество IgE, меченного I^{125} . В результате реакции происходит связывание данного компонента, обратно пропорциональное содержанию IgE в сыворотке пациента. Результаты оценивают с помощью гамма-счетчика по радиоактивности образующихся иммунных комплексов.

Поскольку РИА требует дорогостоящего оборудования и реактивов, а также условий для работы с радиоактивными изотопами, он мало используется в настоящее время.

Методы, используемые в современной практике для определения аллергенспецифических IgE в сыворотке крови

Высококочувствительными и специфичными методами определения аллергенспецифических IgE-антител являются РАСТ, МАСТ, иммуноблоттинг, твердофазный ИФА, микроэррей.

РАСТ (радиоаллергосорбентный тест) — метод определения специфических IgE-антител в сыворотке крови пациента к аллергену, предварительно сорбированному на пористом носителе (рис. 7).

В сыворотку больного вносится нерастворимый полимер — аллергенный конъюгат, который сорбирует на себе специфические по отношению к используемому аллергену антитела. Далее добавляют антиглобулиновую сыворотку (против IgE), меченную радиоактивным изотопом. После отмывки несвязавшихся реагентов, результаты оценивают с помощью гамма-счетчиков по уровню радиоактивности образующихся иммунных комплексов в сопоставлении с контролем и стандартной кривой.

Определение специфических IgE с помощью РАСТ показано при высоком риске анафилактических реакций, поражении кожи и проведении лечения, влияющего на результаты кожных проб.

В настоящее время широкое распространение получили РАСТ третьего поколения, которые характеризуются большой чувствительностью и специфичностью, автоматизацией, использованием флюорохромных, ферментных меток или хемилюминесценции.

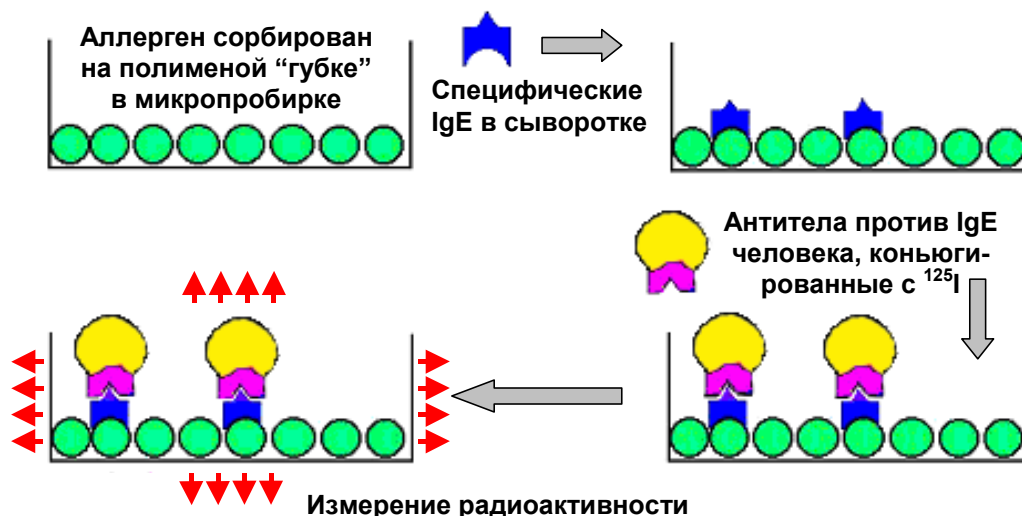


Рис. 7. Принцип постановки РАСТ (по L. Wide)

Определение аллергенспецифических IgE в РАСТ с применением флюоресцентной метки

К аллергену, сорбированному на целлюлозном носителе, добавляют сыворотку крови пациента. Затем добавляются меченные ферментом

(β -галактозидазой) анти-IgE-АТ, которые связываются с образовавшимся конъюгатом. После отмывания несвязавшихся антител добавляют субстрат (4-метилимбеллиферил- β -D-галактозид), в случае ферментации которого образуются флуоресцентные вещества, концентрация которых выявляется при помощи ридера (FluoroCount).

В качестве примера метода, основанного на эффекте хемилюминесценции, можно привести МАСТ.

МАСТ (множественный аллергосорбентный тест) — метод определения аллергенспецифических IgE, аналогичный по принципу постановки РАСТ, где аллерген сорбирован на целлюлозных нитях, а в качестве индикатора реакции используются фотореагенты, свечение которых регистрируется на пленке Polaroid, на люминометре, на фотометре (рис. 8). Метод позволяет быстрее получить результаты исследования, дает возможность определять необходимые параметры даже у одного больного, не ожидая накопления проб для использования целого набора.

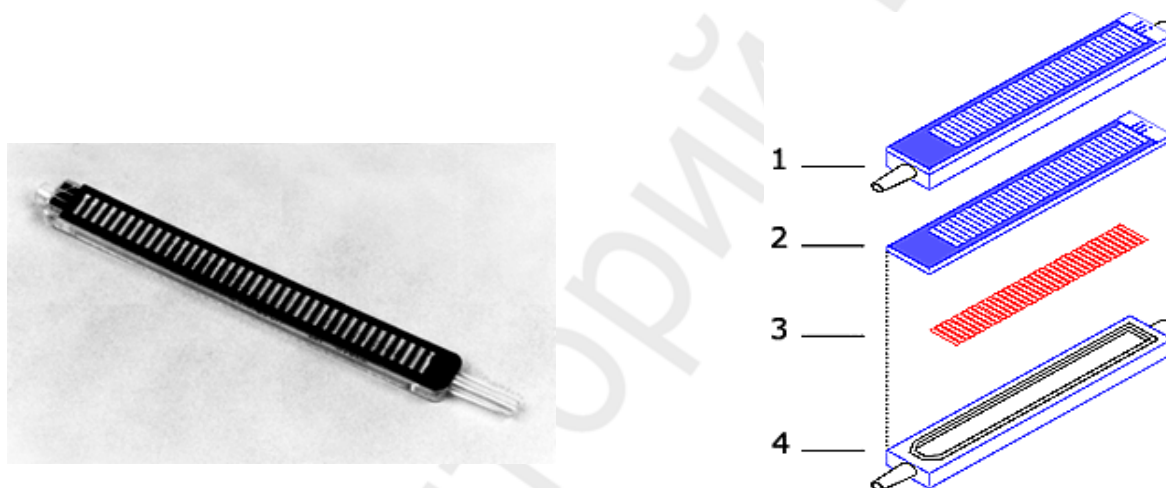


Рис. 8. Устройство для постановки МАСТ:

1 — МАСТ-панель в сборе; 2 — крышка; 3 — целлюлозные нити с адсорбированным аллергеном; 4 — корпус

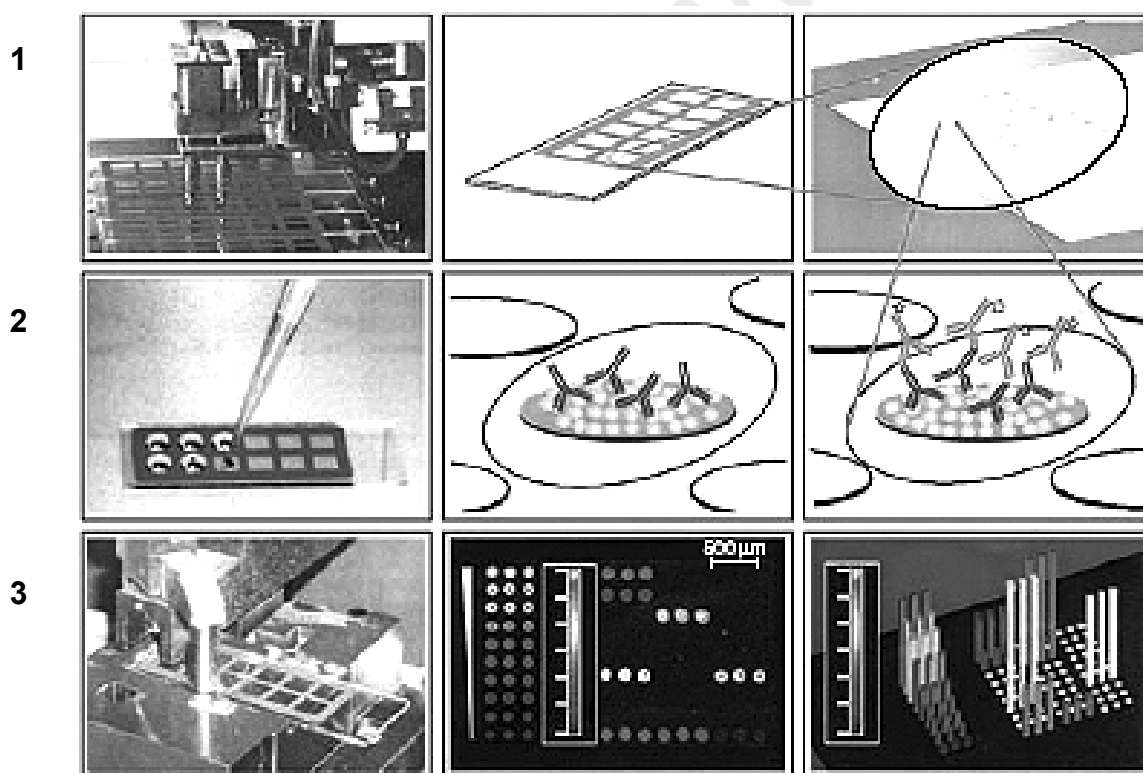
Псевдоиммуноблот — метод, позволяющий одновременно выявлять специфические IgE-антитела к спектру аллергенов (к каждому из них) в сыворотке или другом материале. Псевдоиммуноблот основан на твердофазном ИФА, но в отличие от последнего обладает большей специфичностью (но меньшей чувствительностью), быстротой выполнения, минимальным объемом крови (менее 0,5 мл), возможностью одновременного тестирования с большим числом аллергенов (около 20 в каждой панели). Кроме того, сейчас применяется программная высокоточная обработка результатов.

Современные тест-системы построены по принципу двухуровневого определения аллергостатуса: на первом уровне производится *стандартное* аллергообследование, позволяющее определить группу аллергенов,

к которой имеется чувствительность. После этого возможно проведение *расширенного* (более точного и сложного) определения чувствительности к конкретному аллергену.

Классический иммуоблот применяют в случае наличия четких указаний на причинный аллерген (данные анамнеза, элиминационного теста и др.) и отрицательных результатов тестирования на специфический IgE с охарактеризованными компонентами этого аллергена. В таких случаях из грубого экстракта аллергена получают блоты и проводят анализ сыворотки больного на наличие IgE, специфичных к минорным (не охарактеризованным) компонентам аллергена.

Микроэррей (microarray) является сравнительно новым (разработан в 1990-х гг.) и весьма перспективным направлением в прикладной молекулярной биологии. В настоящее время наибольшее распространение получила технология микроэррея, основанная на ДНК-олигонуклеотидах, однако развивается и микроэррей с применением моноклональных антител и рекомбинантных антигенов. В частности, подобная технология применяется для диагностики и оптимизации лечения аллергий (рис. 9).



Harwanegg C. et al., Clin. Exp. Allergy 2003, 33: 7- 13.

Рис. 9. Схема проведения микроэррея для диагностики аллергии

Исследование проводится в несколько этапов:

1. Приготовление микрочипа: рекомбинантные аллергены раскапываются на поверхность активированного предметного стекла (объем капли — нанолитры, количество антигена — десятки пикограмм). Одно

стекло содержит 12 ячеек. Каждая ячейка содержит десятки (сотни) различных аллергенов и калибровочную кривую (возрастающие количества IgE) в триплетах. Таким образом, одновременно можно обследовать до 12 пациентов.

2–3. Ход теста:

- а) раскапывание сывороток пациентов (15 мкл);
- б) инкубация (IgE пациента соединяются с аллергенами);
- в) добавление моноклональных антител против IgE, меченных флуорохромом;
- г) сканирование микрочипа;
- д) типичная сканограмма микрочипа:
 - первые три ряда = калибровочная кривая (интенсивность свечения пропорциональна количеству фиксированных IgE);
 - далее — профиль сенсibilизации пациента (специфичность и количество IgE в сыворотке пациента).

Тесты активации клеток аллергенами (CAST) являются современными методами диагностики ГНТ медиаторного типа, не обусловленной IgE (рис. 10).

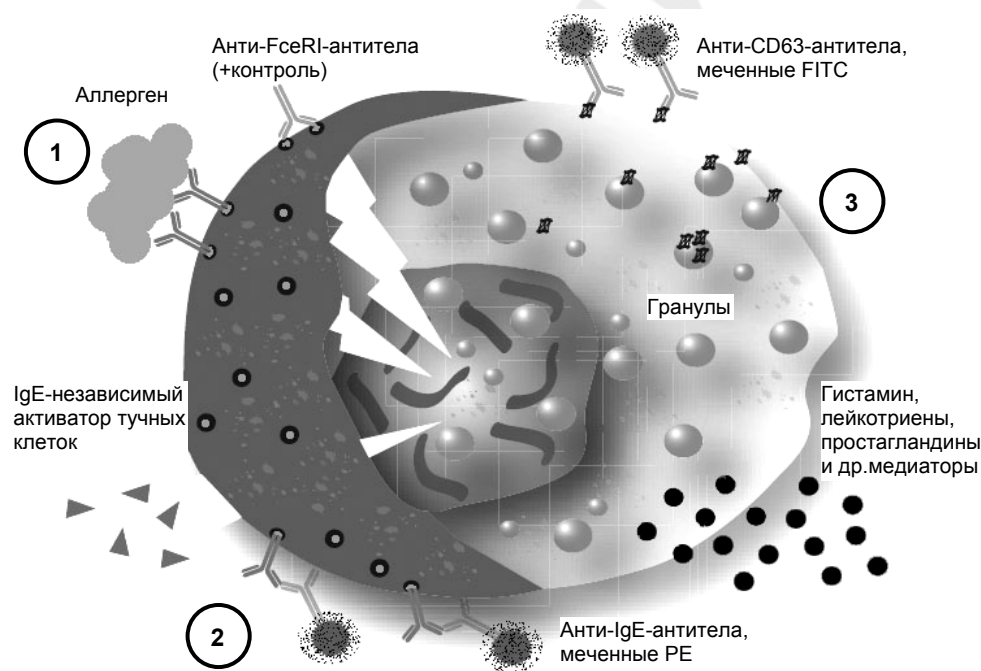


Рис. 10. Принцип постановки CAST/FAST:

1 — стимуляция базофилов (IgE-зависимая, с помощью аллергена; с помощью анти-FcεRI-антител; IgE-независимая, с помощью пищевых добавок, нестероидных противовоспалительных средств (аспирин), лекарственных препаратов); 2 — идентификация базофилов. Проводится только для FAST, обычно с помощью меченых антител против IgE или рецепторов к хемокинам CCR3; 3 — учет реакции. CAST учитывают с помощью количественного определения лейкотриенов (тИФА). FAST — путем определения процента активированных базофилов (экспрессирующих CD63) с помощью цитофлуориметрии

Ранее подобную реактивность выявляли в тестах повреждения лейкоцитов и стимуляции выделения гистамина базофилами, однако они слишком трудоемки, плохо воспроизводятся и не поддаются стандартизации. CAST/FAST ставится в несколько стадий:

1. Выделение лейкоцитов крови:

а) к стабилизированной крови добавляют декстран для осаждения эритроцитов;

б) надосадок центрифугируют для осаждения лейкоцитов (удаление декстрана и тромбоцитов);

в) осадок лейкоцитов ресуспендируют в буферном растворе, содержащем ИЛЗ.

2. Стимуляция лейкоцитов:

а) с анти-FcεRI-антителами (положительный контроль);

б) физиологическим раствором (отрицательный контроль);

в) аллергеном(ами) в различных концентрациях.

3. Супернатанты отбирают и немедленно определяют содержание лейкотриенов с помощью твердофазного ИФА. Для количественного определения необходимо использовать несколько разведений стандартов для построения калибровочной кривой.

4. Интерпретация теста. Для пищевых аллергенов нижний (пороговый) уровень (cut off) обычно равен 400 пг/мл; для пищевых добавок, лекарственных аллергенов, аэроаллергенов — около 40 пг/мл.

FAST отличается от **CAST** способом учета активированных базофилов: обнаружение и подсчет процента клеток, экспрессирующих CD63 и связанные IgE (рис. 11). Интересующие нас клетки должны иметь связанные на поверхности IgE, т. е. связывать анти-IgE-антитела, меченные FITC, и сильно светиться зеленым. Активированные тучные клетки, помимо этого, экспрессируют CD63, связывают анти-CD63-антитела, меченные PE, и светятся красным. Таким образом, тест положительный, если значительный (>5–15 %) процент клеток (точки на графике) обнаруживается во втором квадранте. В настоящее время существуют коммерческие наборы для постановки комбинированных тестов (CAST и FAST в одной пробирке).

Следует отметить, что CAST/FAST выявляет выделение лейкотриенов лейкоцитами как в связи, так и без наличия аллерген-специфических IgE. Основные показания для применения CAST/FAST: подозрение на ГНТ по медиаторному типу и отсутствие специфических IgE; наличие гиперчувствительности к пищевым добавкам и лекарственным аллергенам; диагностика аспириновой астмы и подобных состояний. CAST/FAST не рекомендуются как тесты для первичного аллергологического обследования (они сложнее, дороже и уступают стандартным тестам обнаружения специфических IgE (UniCAP и т. д.)).

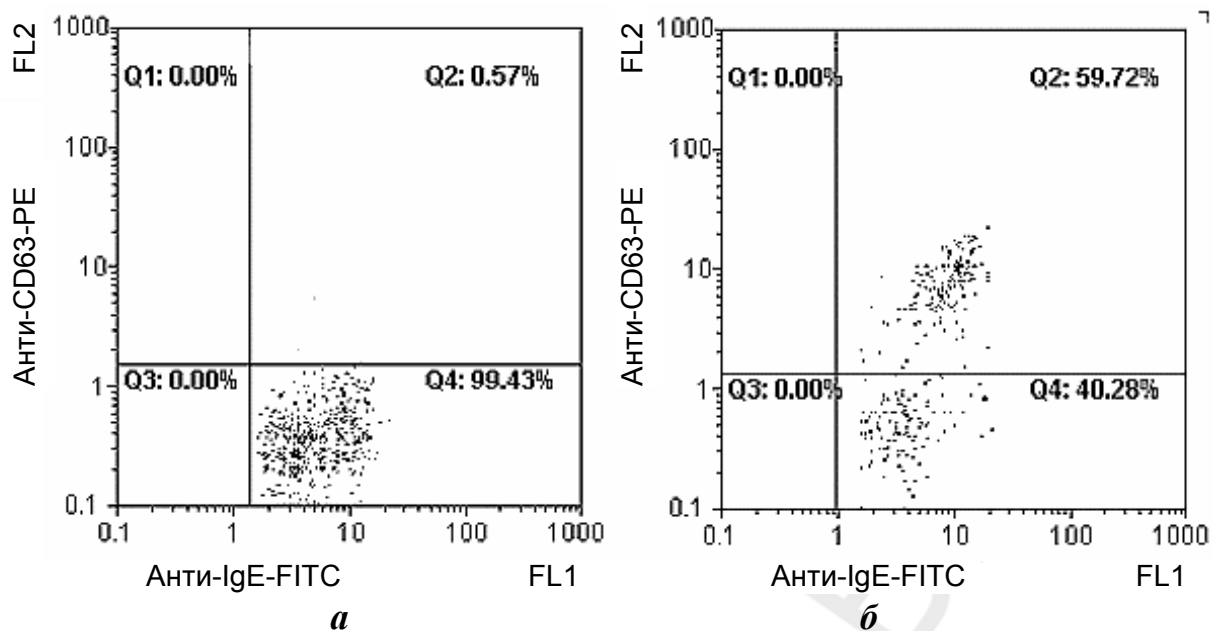


Рис. 11. Учет FAST:

а — отрицательный контроль; б — положительный контроль. Обозначения: PE — фикоэритрин (красное свечение); FITC — флуоресцеин (зеленое свечение); Q1-4 — квадранты на графике распределения клеток (Q1 — сильное красное свечение, слабое зеленое; Q2 — сильное красное и сильное зеленое; Q3 — слабое красное и слабое зеленое; Q4 — слабое красное и сильное зеленое свечение)

Методы, направленные на исследование проаллергических цитокинов и медиаторов иммунного воспаления.

Определение медиаторов и цитокинов в системном кровотоке (обычно методом твердофазного ИФА):

1. Выявление гистамина затруднено крайне высокой скоростью его инактивации (минуты), поэтому для обнаружения его наличия в системной циркуляции (анафилактический шок) чаще применяют определение метил-гистамина в моче (высокий уровень сохраняется несколько часов после исчезновения проявлений системной анафилаксии).

2. Определение триптазы в сыворотке крови. Триптаза содержится в гранулах тучных клеток и длительно (несколько часов) сохраняется в циркуляции.

3. Определение цитокинового статуса периферической крови (ИЛ4, ИФН γ , ИФН γ /ИЛ4) дает крайне общее представление о характере типа реагирования иммунной системы в момент проведения теста. Было популярно в 80-е гг. прошлого века. Позже — в 90-е гг. модель Th1/Th2 уступила место исследованию роли Т-регуляторов при аллергии.

4. Определение содержания клеток, секретирующих те или иные цитокины. В настоящее время имеется возможность определения этих параметров для аллергенспецифических клеток (технология тетрамеров). Чаще для указанных целей применяют проточную цитофлуориметрию и элиспот.

Определение цитокинов и медиаторов в тканях (позволяет выяснить природу воспаления, его интенсивность, преобладающие звенья патогенеза):

1. Определение NO в выдыхаемом воздухе: простой неинвазивный тест, позволяющий отслеживать интенсивность воспалительного процесса в дыхательных путях (контроль лечения бронхиальной астмы).

2. Определение медиаторов и цитокинов в смывах, экссудатах и другом отделяемом поврежденных тканей.

3. Определение клеток, синтезирующих цитокины и медиаторы на срезах из биопсий поврежденных тканей.

4. Количественное определение мРНК цитокинов и медиаторов в смывах, соскобах и биопсийном материале.

Необходимо отметить, что методы определения цитокинов при аллергических процессах используются, в основном, для научных целей.

Тесты, имеющие историческое значение

Тест Шелли/Шварца — дегрануляция базофилов/тучных клеток в присутствии специфического аллергена. Тест широко использовался при лабораторной диагностике аллергических заболеваний ГНТ I типа.

Непрямой базофильный тест (тест Шелли). Этот тест основан на изучении морфологических изменений базофилов в результате взаимодействия сыворотки больного и специфического аллергена. Краситель нейтральный красный избирательно окрашивает гранулы базофилов в кирпично-красный цвет, что позволяет отличать их от других клеток. Реакцию наблюдают под микроскопом с иммерсионной системой. Неизмененные базофилы имеют округлую форму; гранулы, окрашенные краской, располагаются внутри клетки. Положительная реакция проявляется в деформации клеток, образовании псевдоподий, усиленном движении гранул и в редких случаях – выходом гранул из клетки с разрывом ее. В каждом препарате насчитывают 40 базофилов, вычисляют процент морфологически измененных клеток и в опыте, и в контроле.

Условно выделяют 3 степени реакции: слабую (процент измененных базофилов в опыте превышает таковой в контроле на 10 %), умеренную (на 15 %), резко положительную (на 20 % и более). Во всех случаях имеются в виду результаты контроля с наивысшей неспецифической реакцией базофилов.

Прямой базофильный тест (тест Шелли). Данный тест основан на изучении морфологических изменений базофилов периферической крови пациента с аллергическим заболеванием при взаимодействии со специфическим аллергеном. Оценка реакции проводится аналогично оценке при непрямом базофильном тесте.

Реакция повреждения гранулоцитов (РПГ), показатель повреждения нейтрофилов (ППН), реакция выброса из лейкоцитов калия,

ферментов и т. д. Существует большое количество методик в рамках указанного подхода. Например, выделенные лейкоциты инкубируются с раствором аллергена в течение определенного времени, после чего повреждение нейтрофилов регистрируется:

– морфологически: по изменению морфологии, путем окрашивания трипановым синим, бромистым этидием и т. д. (окрашиваются поврежденные/мертвые клетки);

– фотометрически: прирост концентрации ионов калия определяют на пламенном фотометре, выброс миелопероксидазы — по ферментации субстрата-хромогена и изменению цвета раствора — на планшетном фотометре.

Реакция высвобождения гистамина из базофилов периферической крови человека основана на учете высвобождения гистамина после обработки базофильных клеток специфическими аллергенами. Стимуляторами высвобождения гистамина из клеток являются аллергены, анти-IgE, C5a. Ряд цитокинов — ИЛ-3, ИЛ-5, КСФ-ГМ — усиливают высвобождение гистамина базофилами. Тест использовался с целью выявления степени сенсибилизации организма *in vitro* при крапивнице, атопическом дерматите и в экспериментальных исследованиях.

Тесты, не рекомендуемые для применения и/или интерпретации:

1. Определение IgG, в т. ч. IgG4 (за исключением случаев, когда это имеет значение).

2. Кинезиология (метрия) — контакт (демонстрация) больного с аллергеном и одновременное измерение относительной мышечной силы. В случае обнаружения причинного аллергена сила уменьшается. При обнаружении специфического антитела — восстанавливается.

3. VEGA (электродермометрия, тест Фолля) — измерение сопротивления кожи (тканей) между акупунктурными точками при одновременном контакте (демонстрации) с аллергеном. Существуют коммерческие аппараты и тест-системы.

4. Аурикулокардиальный рефлекс — измерение параметров кровенаполнения/пульса и т. д. в момент контакта с аллергеном.

5. Тест провокации-нейтрализации: постановка кожных или других проб с постепенным увеличением концентрации аллергена до достижения выраженной реакции. Таким образом находят разрешающую концентрацию. Далее ставят пробы, постепенно уменьшая концентрацию аллергена, до исчезновения реакции. Эта концентрация может применяться для специфической десенсибилизации.

6. Анализ реакции крови: каплю крови смешивают с растворами аллергенов/пищевых продуктов и т. д. Через некоторое время микроскопически изучают изменения в опытной капле по сравнению с контрольной.

7. Иридодиагностика аллергии.
8. Диагностика аллергии по нарушению циркуляции различных мистических видов энергии человеческого тела или духа.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Клиническая аллергология* / под ред. Р. М. Хаитова. М. : МЕДпресс-информ, 2002. 623 с.
2. *Клинические рекомендации. Аллергология* / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. М. : ГЭОТАР-Медия, 2006. 228 с.
3. *Новиков, Д. К.* Клиническая аллергология / Д. К. Новиков. Минск : Высшая школа, 1991. 511 с.
4. *Титов, Л. П.* Иммунология : терм. словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2004. 213 с.
5. *Allergy : an atlas of investigation and management* / S. H. Arshad [et al.] // Atlas medical publishing. 2005. 189 p.
6. *Kemp, F. S.* Diagnostic testing of allergic disease / F. S. Kemp, R. F. Lockey. Marsel Dekker Inc., 2000. 349 p.
7. *Adelman, D. C.* Manual of Allergy and Immunology / D. C. Adelman, T. B. Casale, J. Corren. 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 535 p.
8. *Lieberman, Ph. L.* Atlas of allergic disease / Ph. L. Lieberman, M. S. Blaiss. Current Medicine Inc., 2001. 274 p.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	3
Введение	4
ГНТ I медиаторного (реагинового) типа.....	6
Методы диагностики аллергических заболеваний	11
Аллергоанамнез	11
Объективное обследование больного	12
Методы диагностики <i>in vivo</i>	13
Методы диагностики <i>in vitro</i>	17
Литература.....	29

Учебное издание

Черношей Дмитрий Александрович
Кирильчик Елена Юрьевна
Титов Леонид Петрович
Канашкова Татьяна Александровна

АЛЛЕРГИЯ. МЕДИАТОРНЫЙ ТИП ГНТ. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Учебно-методическое пособие

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
В авторской редакции
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой
Корректор Ю. В. Киселёва

Подписано в печать 29.01.09. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Печать офсетная. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,51. Тираж 150 экз. Заказ 322.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.
ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.