

М. М. Куртова, І. Г. Кольцова, Є. В. Тарасов, А. П. Боровик

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ АНТИТІЛ ДО БОКОВИХ КАРБОГІДРАТНИХ ЛАНЦЮГІВ АЛЕРГЕНІВ НА ПОПУЛЯЦІЙНИЙ ПРОФІЛЬ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ПАЦІЄНТІВ У ПІВДЕННО-ЗАХІДНОМУ РЕГІОНІ УКРАЇНИ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616-056.43-078-048.34-085.37

М. Н. Куртова, И. Г. Кольцова, Е. В. Тарасов, А. П. Боровик

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИТЕЛ К БОКОВЫМ КАРБОГИДРАТНЫМ ЗВЕНЬЯМ АЛЛЕРГЕНОВ НА ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПАЦИЕНТОВ В ЮГО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ УКРАИНЫ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Были обследованы на наличие IgE антител к 28 аллергенам методом иммуноблоттинга производства компании Mediwiss (Германия) 500 пациентов Юго-Западного региона Украины с подозрением либо клинически установленным диагнозом аллергического ринита, конъюнктивита, бронхиальной астмы, поллиноза. У (21,1±2,00) % обследованных пациентов с наличием антител к различным аллергенам выявлялись антитела к CCD-маркеру, присутствовавшему на блооте. Такие пациенты значительно меняли эпидемиологическую картину сенсibilизации обследованной когорты за счет повышения процента положительных реакций на растительные, инсектные аллергены, а также на латекс. Использование CCD-блокера при повторном обследовании 84 пациентов с множественной сенсibilизацией достоверно снижало процент положительных реакций именно на вышеуказанные аллергены, содержащие боковые кроссреактивные карбогидратные цепочки. Это позволяет рекомендовать использование CCD-блокера для устранения перекрестных неспецифических реакций при рутинном обследовании пациентов с аллергическими заболеваниями. Следует учитывать также возможность неспецифических реакций при эпидемиологическом анализе серопозитивности к аллергенам в популяции.

Ключевые слова: перекрестно реагирующие углеводные детерминанты, CCD, множественные реакции, аллергия.

UDC 616-056.43-078-048.34-085.37

M. M. Kurtova, I. G. Koltsova, Ye. V. Tarasov, A. P. Borovik

STUDY OF INFLUENCE OF ANTIBODIES TO CROSS-REACTIVE CARBOHYDRATE DETERMINANTS OF ALLERGENS ON THE POPULATION PROFILE OF PATIENT SENSITIZATION IN THE SOUTH-WESTERN REGION OF UKRAINE

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

500 patients from the South-Western region of Ukraine with suspected or clinically confirmed diagnosis of allergic rhinitis, conjunctivitis, bronchial asthma, pollinosis were examined for the presence of IgE antibodies to 28 allergens by immunoblotting manufactured by Mediwiss (Germany). It was shown that (21.10±2.00)% of the examined patients with antibodies to various allergens have also antibodies to the CCD-marker present on the blot. Such patients significantly changed the epidemiological pattern of sensitization of the examined cohort due to increase of the percentage of positive reactions to plant, insect allergens, and also to latex. The use of CCD-blocker in the re-examination of 84 patients with multiple sensitization significantly reduced the percentage of positive reactions particularly to the allergens containing cross-reactive carbohydrate chains. This makes it possible to recommend the use of CCD-blocker for the elimination of cross-nonspecific reactions during the routine examination of patients with allergic diseases. The possibility of non-specific reactions in the epidemiological analysis of seropositivity to allergens in the population should also be taken into account.

Key words: cross-reactive carbohydrate determinants, CCD, multiple reactions, allergy.

Відомо, що популяційний профіль сенсibilизації до рослинних, тваринних та інсектних алергенів є географічно залеж-

ним. З огляду на це, важливо мати епідеміологічні дані, що характеризують сукупність алергенів для кожного конкрет-

ного географічного регіону. Проте аналіз і результати цих даних залежать від того, які алергени використовувались у діагностичних тестах, і від того, чи враховувалися неспеци-



фічні реакції, наприклад, зумовлені наявністю антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів алергенів (CCD) — cross-reactive carbohydrate determinants. Найчастіше для *in vitro* діагностики лікарі-алергологи призначають алергопанелі з використанням екстрактів алергенів. Такі алергени містять протеїнові компоненти — мажорні та міnorні білки, а рослинні, інсектні, латекс та деякі інші також містять кросреактивні карбогідратні детермінанти — CCD. Це зумовлює появу досить великої кількості пацієнтів з множинними реакціями на різноманітні алергени, що значно змінює загальну епідеміологічну картину алергопозитивності популяції, при тому що клінічне значення анти-CCD антитіл остаточно не вивчено [1–3].

Мета дослідження — вивчення впливу антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів алергенів (CCD) на популяційний профіль сенсibilізації пацієнтів з алергійними захворюваннями у Південно-Західному регіоні України.

Матеріали та методи дослідження

Протягом 2015–2016 рр. нами були обстежені 500 пацієнтів, які проживають у Південно-Західному регіоні України (Одеська та Миколаївська області), з клінічною підозрою або встановленим діагнозом алергічного риніту, кон'юнктивіту, бронхіальної астми, полінозу щодо наявності IgE антитіл до рослинних і побутових респіраторних алергенів методом імуноблотингу виробництва компанії Mediwiss (Німеччина). До складу респіраторного блоту 30 Resp LV входили такі маркери: рослинні — вільха, береза, ліщина, культивоване жито, полин, суміш трав

раннього цвітіння (тимофіївка, грядиця, пахуча трава звичайна) ромашка та кульбаба; тваринні — епітелій kota, собаки, коня, кроля, хом'яка, морської свинки, миші та пацюка; побутові — кліщі домашнього пилу (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*) та борошна (*Acarus siro*), плісеньові гриби (*Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*), отрути жалючих комах (бджоли та оси), тарганів, латексу й суміш пир'я папуг. Усі блоти, використані для діагностики, містили CCD-маркер — суміш бромелайну, пероксидази хрому й аскорбат оксидази — основних крос-карбогідратних ланцюгів. Повторно обстежені 84 пацієнти з множинними реакціями на алергени з попереднім блокуванням їхніх сироваток крові комерційним CCD-блокером виробництва компанії Mediwiss (Німеччина).

Реакцію імуноблотингу з системою подвійної мітки проводили з цільною сироваткою

крові пацієнта згідно з інструкцією виробника. Статистичну обробку виконували у програмі Excel з обчисленням стандартної похибки відсотка.

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що серед 500 обстежених пацієнтів 417 ((83,40±1,66) %) мали антитіла хоча б до одного з алергенів, представлених на блотах. У зв'язку з тим, що ми вивчали вплив антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів алергенів, усі алергени розподілили на CCD-вмісні та такі, що не містили CCD.

Серед пацієнтів, які мали позитивні реакції на CCD-вмісні алергени, найвищий відсоток виявлення антитіл реєструвався до кульбаби — (26,00±1,96) %, полину гіркого — (21,40±1,83) % та культивованого жита — (20,80±1,82) % (табл. 1). На жаль, на використаному для обстеження блоті були відсутні алергени амб-

Таблиця 1

Відсоток виявлення IgE антитіл до CCD-вмісних алергенів у пацієнтів у Південному регіоні України, абс. (%±m), n=500

Алерген (код)	Кількість позитивних
Рослинні	
Кульбаба (w8)	130 (26,00±1,96)*
Полин гіркий (w5)	107 (21,40±1,83)
Культивоване жито (g12)	104 (20,80±1,82)
Суміш трав раннього цвітіння (gx)	88 (17,6±1,7)
Береза (t3)	78 (15,60±1,62)
Вільха (t2)	79 (15,80±1,63)
Ліщина (t4)	65 (13,0±1,5)
Ромашка (w206)	50 (10,00±1,34)
Інсектні	
Бджола (i1)	57 (11,40±1,42)
Оса (i3)	35 (7,00±1,14)
Тарган (i6)	46 (9,20±1,29)
Латекс (k82)	47 (9,40±1,31)

Примітка. * — $p < 0,01$ (по відношенню до всіх алергенів, крім полину та культивованого жита).



**Відсоток виявлення IgE антитіл до алергенів,
що не містять CCD, у пацієнтів
у Південному регіоні України, абс. (% \pm m), n=500**

Алерген (код)	Кількість позитивних
Гриби	
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	176 (35,20 \pm 2,14*)
<i>Cladosporium herbarum</i> (m2)	105 (21,00 \pm 1,82)
<i>Aspergillus fumigatus</i> (m3)	44 (8,80 \pm 1,27)
<i>Penicillium notatum</i> (m1)	29 (5,80 \pm 1,05)
Кліщі	
<i>Acarus siro</i> (d70)	155 (31,00 \pm 2,07)*
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	119 (23,8 \pm 1,9)
<i>D. farinae</i> (d2)	100 (20,00 \pm 1,79)
Епітелій тварин або його деривати	
Пацюк (e87)	125 (25,00 \pm 1,94)**
Миша (e88)	95 (19,00 \pm 1,75)
Кіт (e1)	85 (17,00 \pm 1,68)
Собака (e5)	71 (14,20 \pm 1,56)
Кінь (e3)	52 (10,40 \pm 1,37)
Хом'як (e84)	37 (7,40 \pm 1,17)
Суміш пір'я папуг (ex8)	25 (5,00 \pm 0,97)
Морська свинка (e6)	17 (3,40 \pm 0,81)
Кролик (e82)	13 (2,60 \pm 0,71)

Примітка. * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,05$.

розії, яка, за нашими попередніми даними, посідала значне місце у структурі сенсibiliзації населення (амброзія полинолиста — (29,20 \pm 1,91) %, амброзія полинолиста коротка — (27,90 \pm 2,60) % [4].

Серед алергенів, що не містили CCD, найвищий відсоток виявлення антитіл у групі грибів реєструвався до *Alternaria alternata* — (35,20 \pm 2,14) %, у групі кліщів — до *Acarus siro* (31,00 \pm 2,07) %; у групі алергенів тваринного походження — до антигенів пацюка — (25,00 \pm 1,94) %, причому відсотки виявлення були достовірно вищими у своїх групах походження; $p < 0,01$ та $p < 0,05$ відповідно (табл. 2).

Аналіз структури сенсibiliзації був проведений на основі даних 417 серопозитивних пацієнтів: 88 із них — (21,10 \pm 2,00) %, які мали антитіла до різноманітних алергенів, були позитивними по відношенню до CCD-маркера, присутньому на блоті.

Раніше нами було показано що у цій групі відсоток виявлення антитіл до CCD достовірно збільшувався у пацієнтів з 5 маркерами та більше на одному блоті ($p < 0,01$) і становив від (22,72 \pm 6,31) % у пацієнтів з 5 маркерами до (54,83 \pm 0,06) % при визначенні 10 і більше [5]. Зважаючи на це, ми вирішили з'ясувати, за рахунок власне яких алергенів збільшувалася кількість позитивних реакцій.

Отримані результати представлені у табл. 3 та на рис. 1, які наочно демонструють, що у CCD-позитивних пацієнтів достовірно ($p < 0,01$; $p < 0,05$) зростає кількість позитивних реакцій саме на алергени, у складі яких присутні бокові карбогідратні ланцюги, тимчасом профіль сенсibiliзації на алергени без бокових карбогідрат-

них ланцюгів практично не відрізнявся від профілю CCD-негативних пацієнтів. Отже, пацієнти з наявністю анти-CCD антитіл значно змінюють епідеміологічну картину сенсibiliзації популяції за рахунок підвищення відсотка позитивності до рослинних та інсектних алергенів, а також латексу.

Варто зауважити, що CCD-позитивність не тотожна полісенсibiliзованості, тому що більша частка полісенсibiliзованих пацієнтів реєструвалася саме серед CCD-негативних пацієнтів. З метою внутрішнього контролю ми перевірили, як змінюється профіль сенсibiliзації у полісенсibiliзованих пацієнтів (5 маркерів і більше на блоті) по відношенню до профілю пацієнтів, у яких реєструвалося до 4 мар-

керів на блоті, як у групі CCD-негативних, так і у групі CCD-позитивних пацієнтів. Таке порівняння було зумовлене тим, що саме у групах з 5 маркерами на блоті й більше значно зростає кількість пацієнтів, позитивних по відношенню до CCD-маркера.

Для цього 417 пацієнтів, позитивних хоча б до одного алергену, були розподілені на 4 групи з огляду на наявність або відсутність антитіл до CCD, кількість позитивних маркерів на одному блоті у кожного пацієнта (1–4 або 5 маркерів і більше) та природи антигенів (алергени, що містять CCD, та ті, що не містять): група А — CCD+ пацієнти/алергени, що не містять CCD; група В — CCD+ пацієнти/алергени, що містять CCD; група С — CCD-



Таблиця 3

Профілі сенсibilізації до різноманітних алергенів у групах CCD-позитивних (CCD+) та CCD-негативних (CCD-) пацієнтів порівняно із загальними даними, абс. (%±m)

Алерген	Кількість пацієнтів		
	Загальна, n=417	CCD+, n=88	CCD-, n=329
d1	88 (21,1±2,0)	28 (31,82±4,97)	91 (27,66±2,47)
d2	100 (23,98±2,09)	22 (25,00±4,62)	78 (23,71±2,34)
d70	155 (37,17±2,37)	26 (29,55±4,86)	129 (39,21±2,69)
t3	78 (18,71±1,91)	57 (64,77±5,09)**	21 (6,38±1,35)
t2	79 (18,94±1,92)	54 (61,36±5,19)**	25 (7,60±1,46)
t4	65 (15,59±1,78)	42 (47,73±5,32)**	23 (6,99±1,41)
gx	88 (21,1±2,0)	52 (59,09±5,24)**	36 (10,94±1,72)
g12	104 (24,94±2,12)	57 (64,77±5,09)**	47 (14,29±1,93)
w5	107 (25,66±2,14)	38 (43,18±5,28)*	69 (20,97±2,24)
w8	130 (31,18±2,27)	60 (68,18±4,97)**	70 (21,28±2,26)
w206	50 (11,99±1,59)	22 (25,00±4,62)*	28 (8,51±1,54)
i1	57 (13,67±1,68)	41 (46,59±5,32)**	16 (4,86±1,19)
i3	35 (8,39±1,36)	22 (25,00±4,62)*	13 (3,95±1,07)
i6	46 (11,03±1,53)	21 (23,86±4,54)*	25 (7,60±1,46)
k82	47 (11,27±1,55)	41 (46,59±5,32)**	6 (1,82±0,74)
m1	29 (6,95±1,25)	11 (12,50±3,53)	18 (5,47±1,25)
m2	105 (25,18±2,13)	14 (15,91±3,90)	91 (27,66±2,47)
m3	44 (10,55±1,50)	11 (12,50±3,53)	33 (10,03±1,66)
m6	176 (42,21±2,42)	26 (29,55±4,86)	150 (45,59±2,75)
e1	85 (20,38±1,97)	16 (18,18±4,11)	69 (20,97±2,24)
e3	52 (12,47±1,62)	9 (10,23±3,23)	43 (13,07±1,86)
e5	71 (17,03±1,84)	21 (23,86±4,54)	50 (15,20±1,98)
e6	17 (4,08±0,97)	5 (5,68±2,47)	12 (3,65±1,03)
e84	37 (8,87±1,39)	6 (6,82±2,69)	31 (9,42±1,61)
e82	13 (3,12±0,85)	3 (3,41±1,93)	10 (3,04±0,95)
e88	95 (22,78±2,05)	11 (12,50±3,53)*	84 (25,53±2,40)
e87	125 (29,98±2,24)	19 (21,59±4,39)	106 (32,22±2,58)
ex8	25 (6,00±1,16)	5 (5,68±2,47)	20 (6,08±1,32)

Примітка. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

пацієнти/алергени, що не містять CCD; група D — CCD-пацієнти/алергени, що містять CCD (рис. 2).

Ми порівняли відсотки виявлення антитіл у пацієнтів з 1–4 позитивними маркерами на блоті та у полісенсibilізованих пацієнтів (5 маркерів та більше) й обрахували різницю між ними у кожній групі. Так, рівень зростання виявлення антитіл у групах А та В становив у середньому (13,28±1,93) % та (47,36±4,51) %, у групах С та D — (21,32±2,41) % та (17,02±2,44) % відповідно (рис. 3).

Зростання в групі В було достовірно вищим порівняно з групами А та D ($p < 0,01$). Варто зауважити, що зростання відсотка виявлення антитіл до алергенів, які не мають у структурі CCD-ланцюгів, було достовірно вищим у пацієнтів без антитіл до бокових карбогідратних детермінант (група С), ніж у CCD-позитивних пацієнтів ($p < 0,05$). Серед CCD-негативних пацієнтів зростання частоти виявлення антитіл не відрізнялося між CCD-вмісними алергенами та такими, що не містять CCD (групи С та D).

У полісенсibilізованих CCD-позитивних пацієнтів реєструвалося зростання відсотка по-

Відсоток виявлення антитіл, %

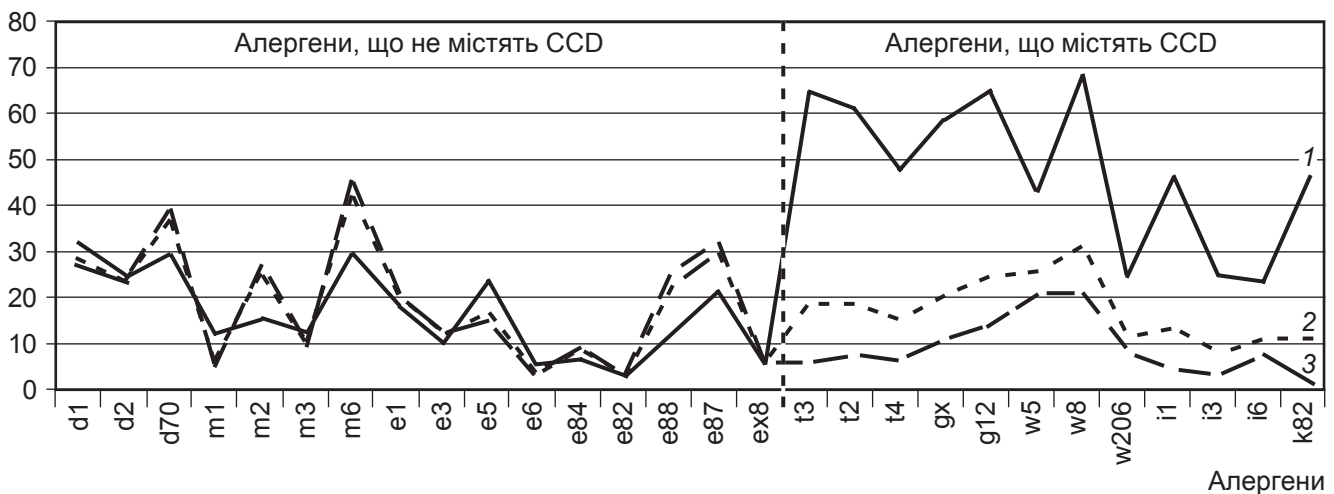
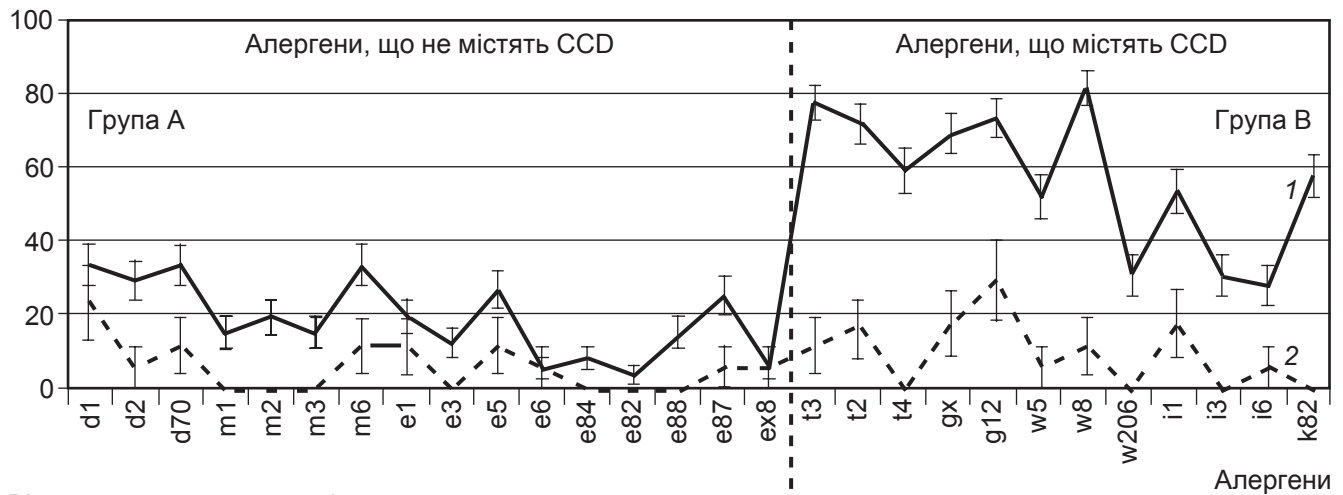


Рис. 1. Профілі сенсibilізації до різноманітних алергенів у групах CCD-позитивних (1 — CCD+) та CCD-негативних (2 — CCD-) пацієнтів порівняно із загальними даними (3)

Відсоток виявлення антитіл у CCD-позитивних пацієнтів, %



Відсоток виявлення антитіл у CCD-негативних пацієнтів, %

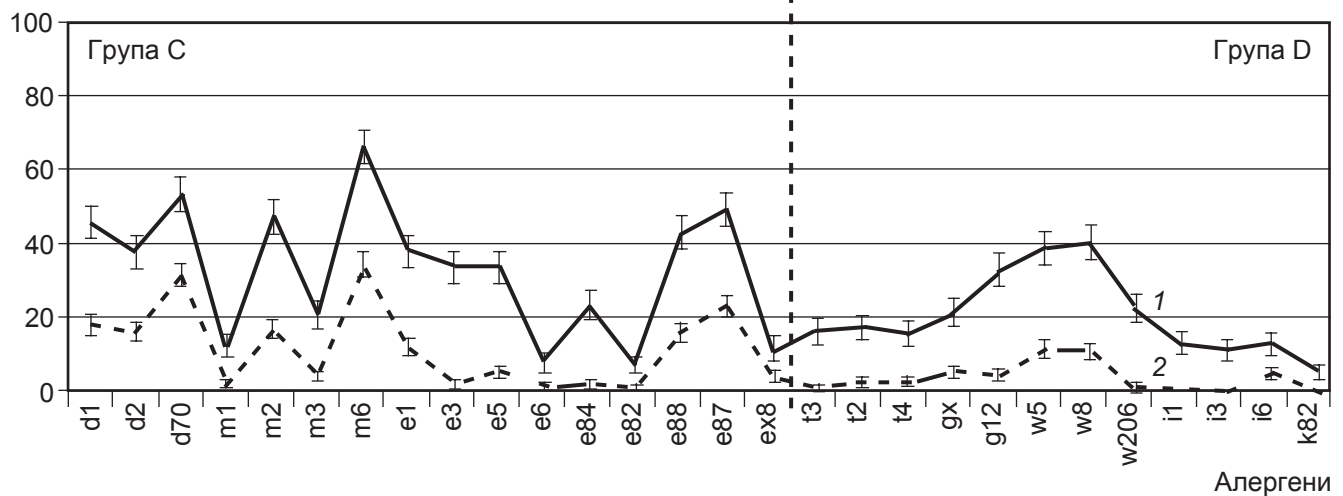


Рис. 2. Порівняння профілів сенсibilізації між групами пацієнтів з 5 маркерами і більше (1) та групами пацієнтів до 4 маркерів (2) на блоті у CCD-позитивних (CCD+) і CCD-негативних (CCD-)

зитивних реакцій в основному до CCD-вмісних алергенів, тимчасом як у CCD-негативних пацієнтів відмічалася рівномірне зростання відсотка позитивних реакцій до всіх алергенів.

Отже, можна зробити припущення, що полісенсibilізація у пацієнтів з відсутністю антитіл до CCD могла бути зумовлена наявністю антитіл до білкових компонентів алергенів і була «істинною», а у пацієнтів з наявністю антитіл до CCD полісенсibilізація залежала від перхресних реакцій на неспецифічні бокові карбогідратні ланцюги рослинних та інсектних алергенів, а також латексу.

Зважаючи на вищевказане, ми повторно перевірили

Рівень зростання частоти виявлення антитіл, %

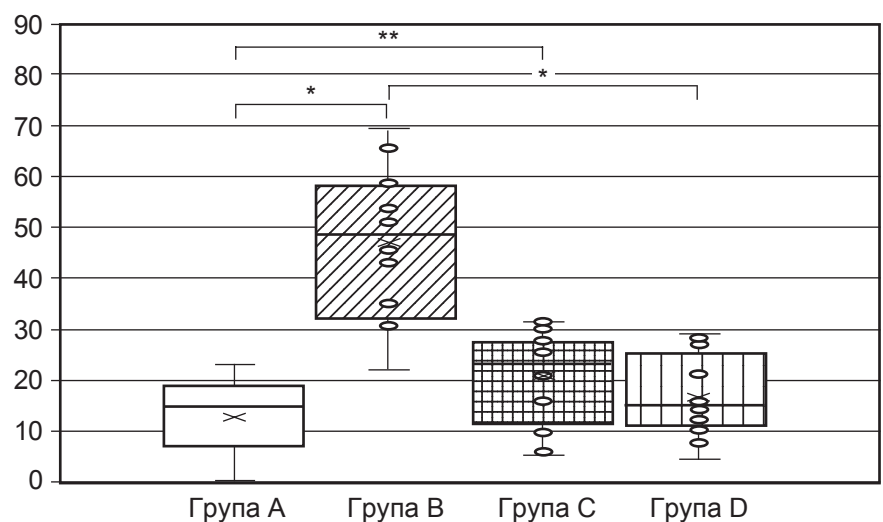


Рис. 3. Порівняння рівнів зростання частот виявлення антитіл у групах А–D; * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,05$



Відсоток виявлення антитіл, %

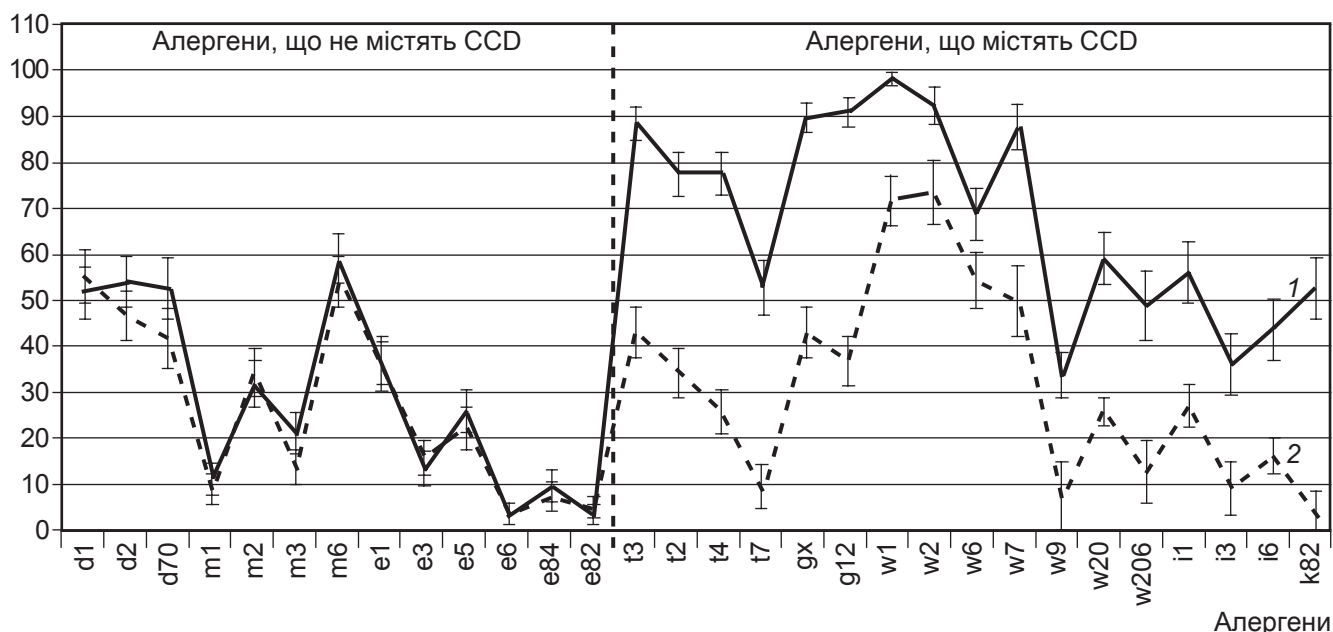


Рис. 4. Порівняння імунологічних профілів 84 полісенсібілізованих пацієнтів до блокування їхніх сироваток крові CCD-блокером (1) та після нього (2)

84 полісенсібілізованих пацієнти з 10 маркерами та більше на блоті щодо наявності антитіл до 30 алергенів з попереднім блокуванням їхніх сироваток крові комерційним CCD-блокером виробництва компанії Mediwiss (Німеччина) з метою усунення неспецифічних результатів, зумовлених наявністю антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів (рис. 4).

Показано, що після блокування було зареєстроване достовірне зниження частоти виявлення антитіл лише до CCD-вмісних алергенів ($p < 0,05$), що може свідчити про хибнопозитивні результати, отримані при первинному обстеженні у частини полісенсібілізованих пацієнтів.

Висновки

1. У пулі серопозитивних до різноманітних алергенів ($21,1 \pm \pm 2,0$) % пацієнтів мали антитіла до CCD.

2. Пацієнти з наявністю анти-CCD антитіл значно змінювали епідеміологічну картину сенсібілізації популяції за рахунок підвищення відсотка позитивності до рослинних та інсектних алергенів, а також латексу.

3. Блокування сироватки крові полісенсібілізованих пацієнтів CCD-блокером достовірно знижувало частоту виявлення антитіл до CCD-вмісних алергенів.

4. Отримані дані свідчать про доцільність введення в рутинне лабораторне обстеження використання CCD-блокера для усунення неспецифічних результатів, зумовлених наявністю антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів.

5. Необхідно враховувати можливість неспецифічних реакцій при епідеміологічному аналізі сенсібілізації до алергенів.

Ключові слова: перехресно реагуючі вуглеводні детермінанти, CCD, множинні реакції, алергія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aalberse R. C. Clinical relevance of carbohydrate allergen epitopes. *Allergy*. 1998. Vol. 53. P. 54–57.
2. Ebo D. G., Hagendorens M. M. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2004. Vol. 34. P. 137–144.
3. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int*. 2016. Vol. 25. P. 98.
4. Куртова М. М., Кольцова І. Г., Боровик А. П., Тарасов Є. В. Вивчення

профілю сенсібілізації до інгаляційних алергенів у пацієнтів південного регіону України. *Досягнення біології та медицини*. 2017. № 2 (30). С. 45–49.

5. Куртова М. М., Кольцова І. Г., Боровик А. П., Тарасов Є. В. Епідеміологічні аспекти CCD-позитивності у пацієнтів з клінічними проявами алергії у Південно-Західному регіоні України. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. № 3 (65). С. 56–62.

REFERENCES

1. Aalberse R.C. Clinical relevance of carbohydrate allergen epitopes. *Allergy* 1998; 53: 54-57.
2. Ebo D.G., Hagendorens M.M. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 137-144.
3. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int*. 2016; 25: 98.
4. Kurtova M.M., Koltsova I.H., Borovyk A.P., Tarasov Ye.V. Study of sensitization profile for inhalation allergens in patients of southern region of Ukraine. *Achievements of biology and medicine* 2017; 2 (30): 45-49.
5. Kurtova M.M., Koltsova I.H., Borovyk A.P., Tarasov Ye.V. Epidemiological aspects of CCD-positivity in patients with clinical manifestations of allergy in the South-Western region of Ukraine. *Clinical & experimental pathology* 2018; 3 (65): 56-62.

Надійшла до редакції 05.10.2018

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Т. В. Чабан,
дата рецензії 12.10.2018

