

Современные методы диагностики аллергических и псевдоаллергических реакций

**профессор кафедры биохимии и молекулярной
биологии с курсом **клинической лабораторной**
диагностики**

доктор мед. наук Т.Т. Радзивил



***Иммунология** вместе со всей ее диагностикой и всей ее терапией является сегодня самой популярной и самой скандальной областью медицины*

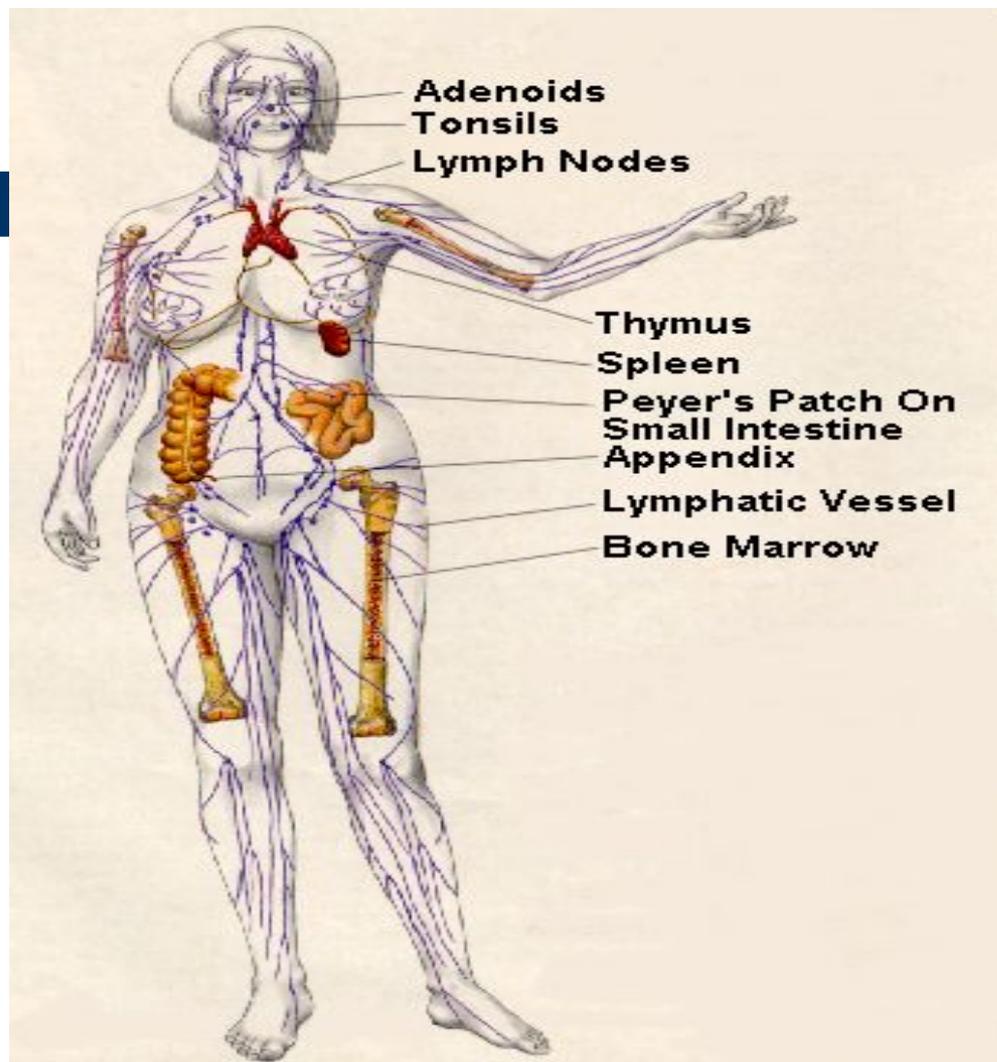




Особенности иммунопатологий

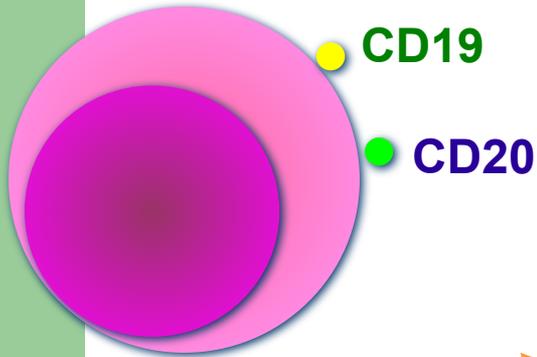
- **«Молодость» и быстрое развитие иммунологии – изменение диагностической значимости маркеров и «гуляющая» норма**
Нарушения в иммунной системе долгое время не сопровождаются субъективными ощущениями у больного - Позднее обращение к врачу
- **Первичный дефект в иммунной системе приводит к поли-органной патологии**
- **Имунопатология проявляется через нарушение функции различных органов и систем – пациент попадает к «слабо-подготовленному» врачу-специалисту: отсюда загадочные диагнозы и неадекватная терапия**

Органы иммунной системы

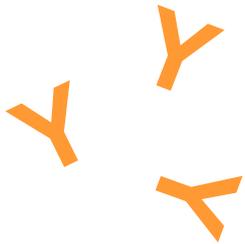


Lymphocyte Subsets

B LYMPHOCYTE



Secretes Antibodies

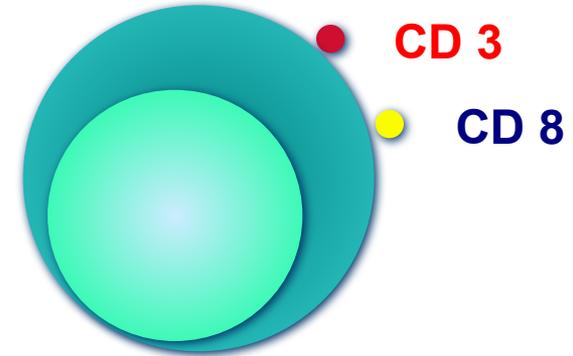


HUMORAL IMMUNITY

T LYMPHOCYTES

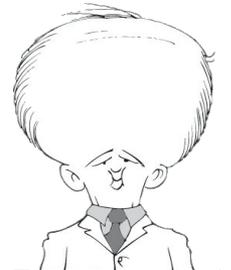


Helper Cells



Suppressor Cells

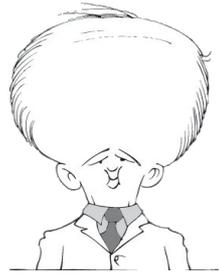
CELLULAR IMMUNITY



Динамика иммунного ответа

- *Представление антигена*
- *Индуктивная фаза*
- *Эффекторная стадия*





Динамика иммунного ответа

- **Представление антигена** - антиген захватывается макрофагами и переваривается
- **Макрофаг** активизируется и выделяет ИЛ-1, который стимулирует Т-хелперы



Динамика иммунного ответа

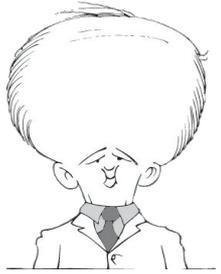
Т-хелперы, получив 2 сигнала от макрофагов выделяют **ИЛ-2**, который стимулирует пролиферацию Т-и В-лимфоцитов



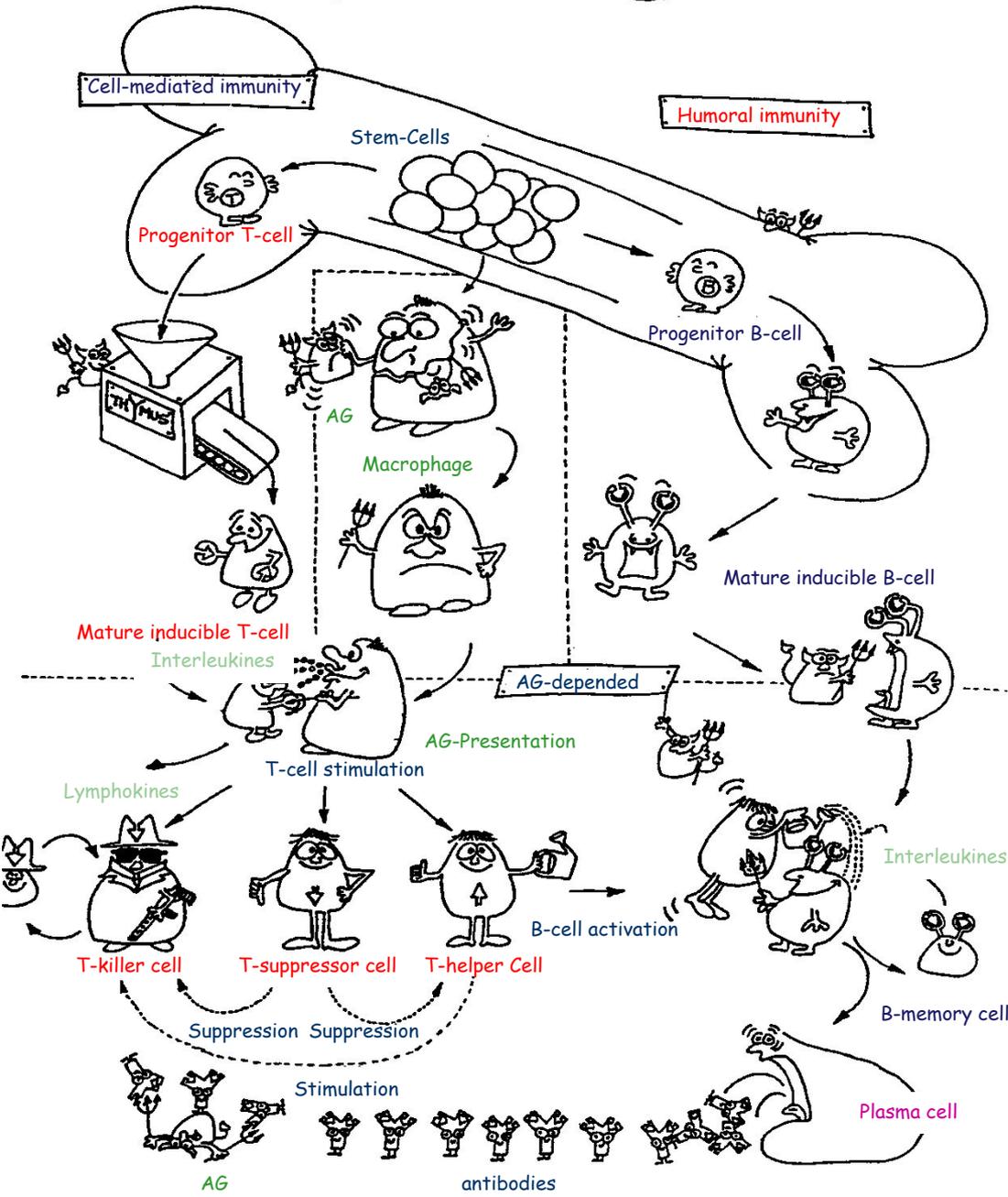
Динамика иммунного ответа

- **В-лимфоциты** превращаются в плазматические клетки, которые синтезируют антитела
- **Т-хелперы** стимулируют Т-супрессоры, которые тормозят иммунный ответ
- Образуются клетки **иммунологической памяти**

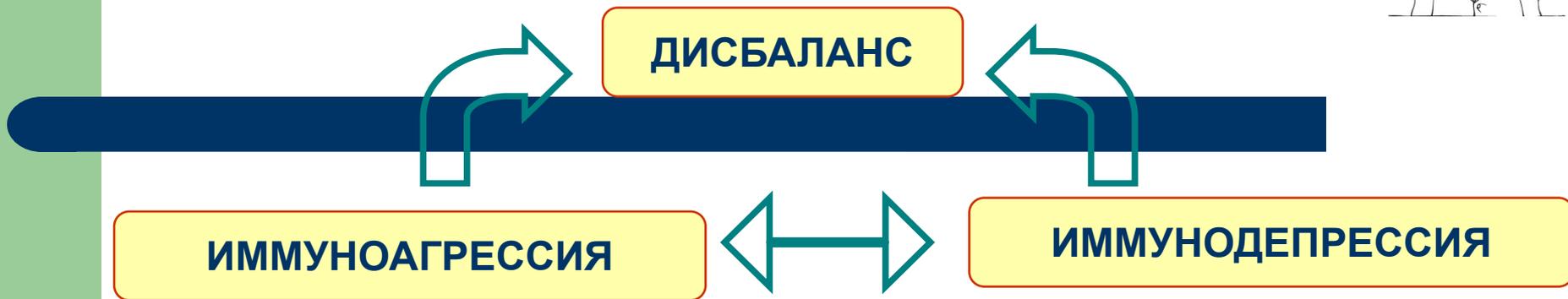
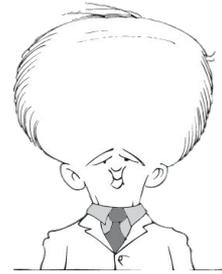
Immune System



Иммунная система



Виды иммунопатологий



-
- Аллергия (ГНТ)
 - Аутоиммунные заболевания (АИЗ)
 - Лимфопролиферативные заболевания (ЛПЗ)
-

-
- Первичные ИД
 - Вторичные ИД
 - Иммунокомпроментированные состояния
-

Иммунодиагностика и иммунотерапия. «простая» логика



ПАЦИЕНТ

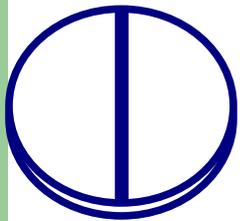
КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

ИММУНОПАТОЛОГИЯ?

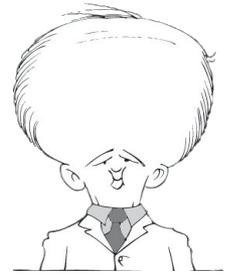
ИММУНОДИАГНОСТИКА
подтверждающий диагноз

ИММУНОСТИМУЛЯТОР

ИММУНОДИАГНОСТИКА
контроль лечения



Аллергия



- **Специфическая повышенная чувствительность к антигенам (аллергенам) в результате неадекватной реакции иммунной системы**
- **Гиперчувствительность, обусловленная иммунными механизмами**

Распространенность аллергических заболеваний



Западная Европа 25 - 30%

**Отдельные экологически
неблагоприятные регионы 50 - 60%**

Промышленные районы России 15 - 35%

**Заболеваемость среди детей
в крупных промышленных городах 10 - 40%**

Распространенность аллергических заболеваний

Аллергические риниты **10 - 15%**

Атопический дерматит **10%**

Аллергическая крапивница **10%**

Аллергическая астма **5 - 10%**

Аллергия на пищевые продукты **2%**

Распространённость аллергических заболеваний в России

- **Частота аллергических заболеваний в России составляет от 10 до 30%**
- **Более 14% населения страдают сезонным аллергическим ринитом**
- **У 10-20% населения в течение жизни встречается 1 случай крапивницы**
- **Среди многообразия форм крапивницы, идиопатическая составляет 80-95%**

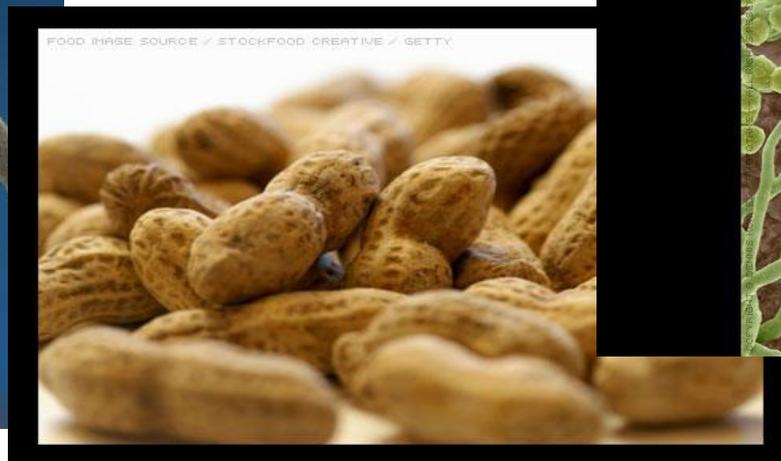


Структура аллергических заболеваний

- На 1-ом месте **аллергический ринит**; при отсутствии адекватного лечения трансформируется в БА
- **Бронхиальная астма**
- **Аллергические дерматиты (АД)**
- Среди АД на 1-ом месте **крапивница**, причём до 80% составляет идиопатическая, т.е. неуточнённой этиологии



Аллергены — вещества, вызывающие аллергические заболевания



Реакции гиперчувствительности (по Gell P., Coombs R. 1969)

Название	АГ-распознающая структура	Эффекторный механизм
Тип I - гиперчувствительность немедленного типа	IgE-антитела	Выброс активных субстанций тучными клетками
Тип II - Цитотоксическая реакция	Антитела IgG1, IgG3	Комплементзависимый цитоллиз
Тип III - Иммунокомплексная реакция	Антитела IgG	Реакция на отложение иммунных комплексов
Тип IV - гиперчувствительность замедленного типа	T-клеточный рецептор	Клеточно- опосредованная реакция (эффекторы - макрофаги)

Реакции гиперчувствительности

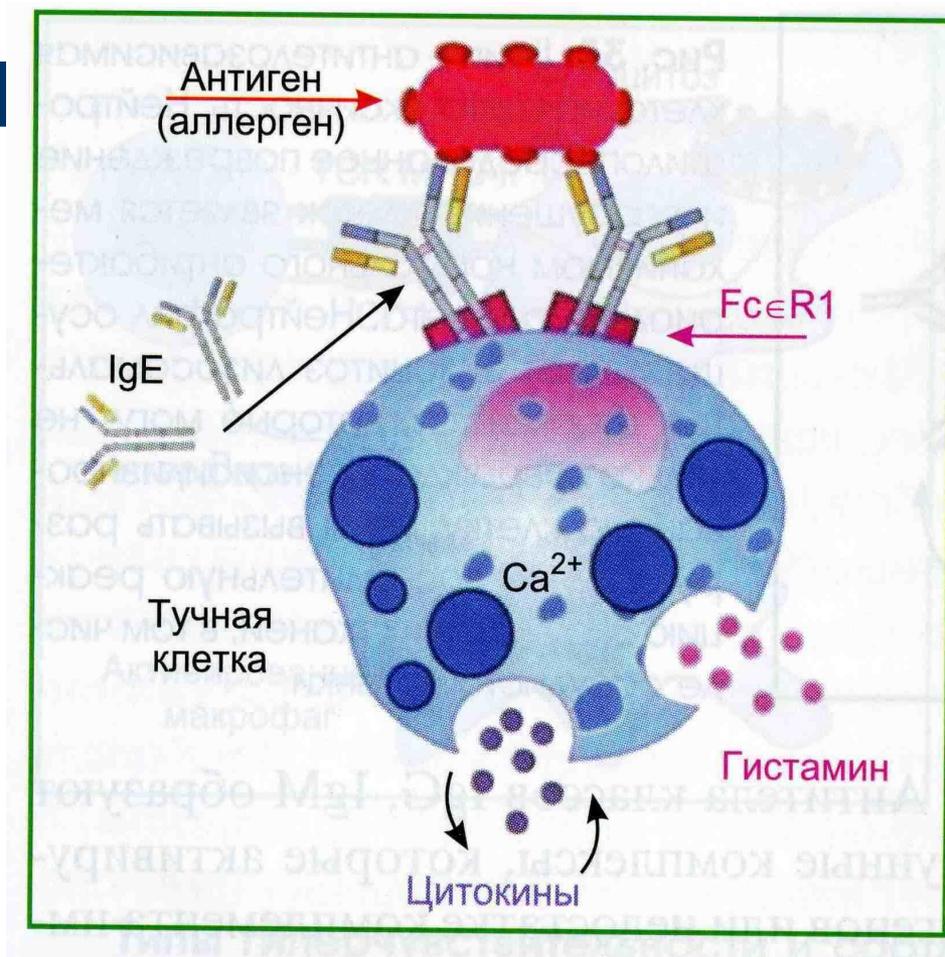
Название	Время развития реакции	Клинические проявления
Тип I - гиперчувствительность немедленного типа	От неск. секунд до 6-12 часов	АШ, приступ БА, ринит, отёк Квинке
Тип IV - гиперчувствительность замедленного типа	Через 24-72 часа	Контактные дерматиты, феномен Артюса



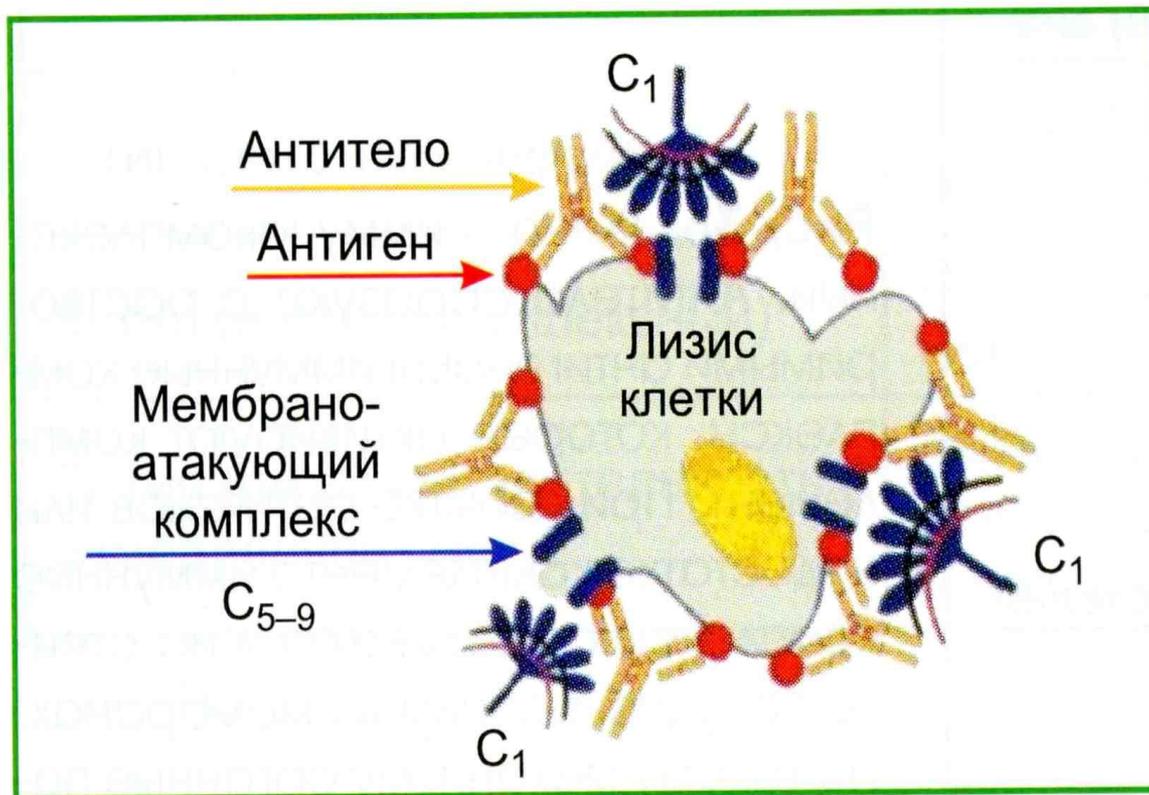
Реакции гиперчувствительности по А.Д. Адо

Название	Время развития реакции	Клинические проявления
Мгновенные	Неск. минут до 1 часа	АШ, крапивница, бронхоспазм
Реакции подострого типа	В течение суток	Различные высыпания, лихорадка
Осложнения затяжного типа	В течение нескольких суток	Контактный дерматит, сывороточная болезнь

I тип – немедленного типа

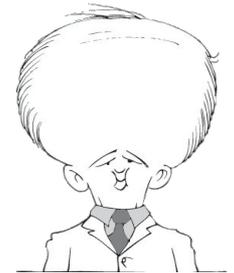
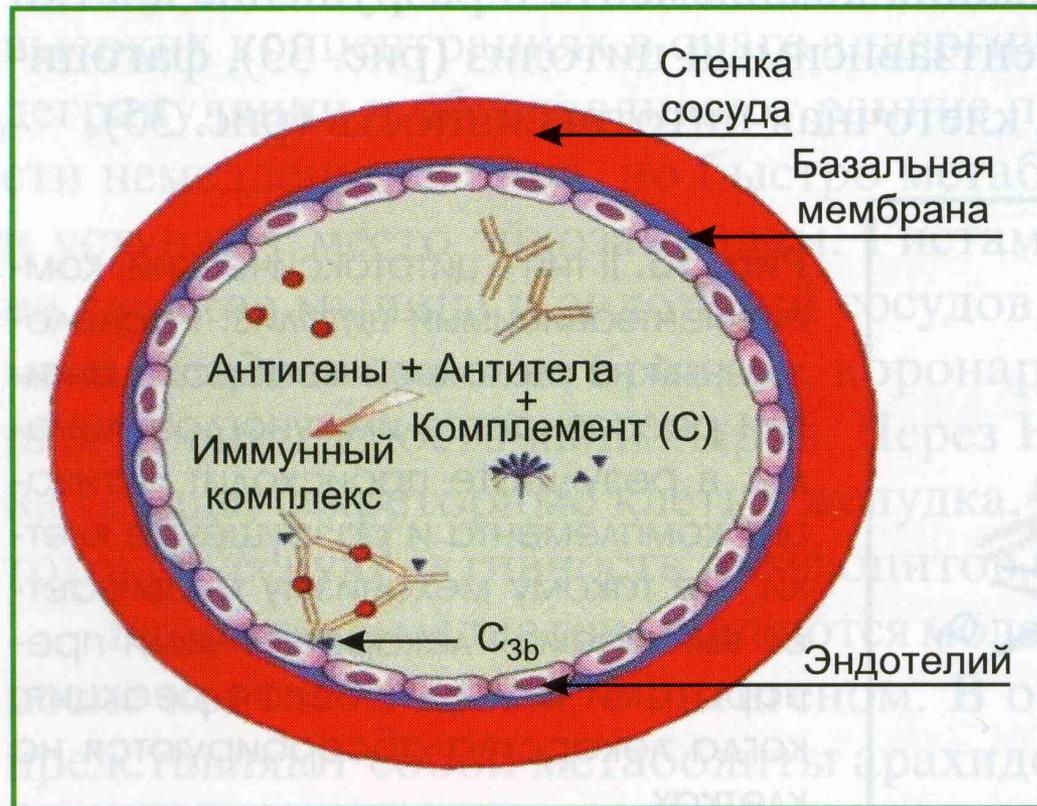


II тип – цитотоксический (комплемент-зависимый цитолиз)

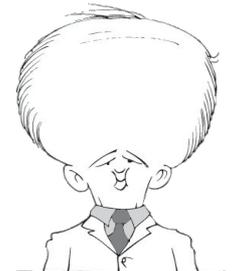
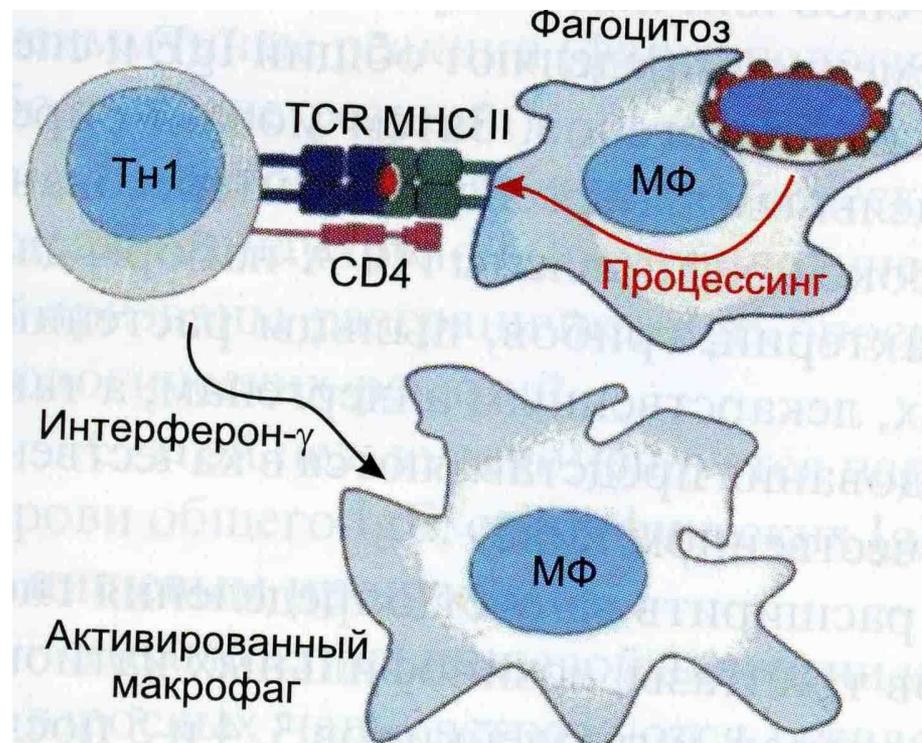


III тип – иммунокомплексный

с участием коплемент

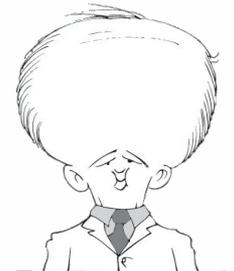
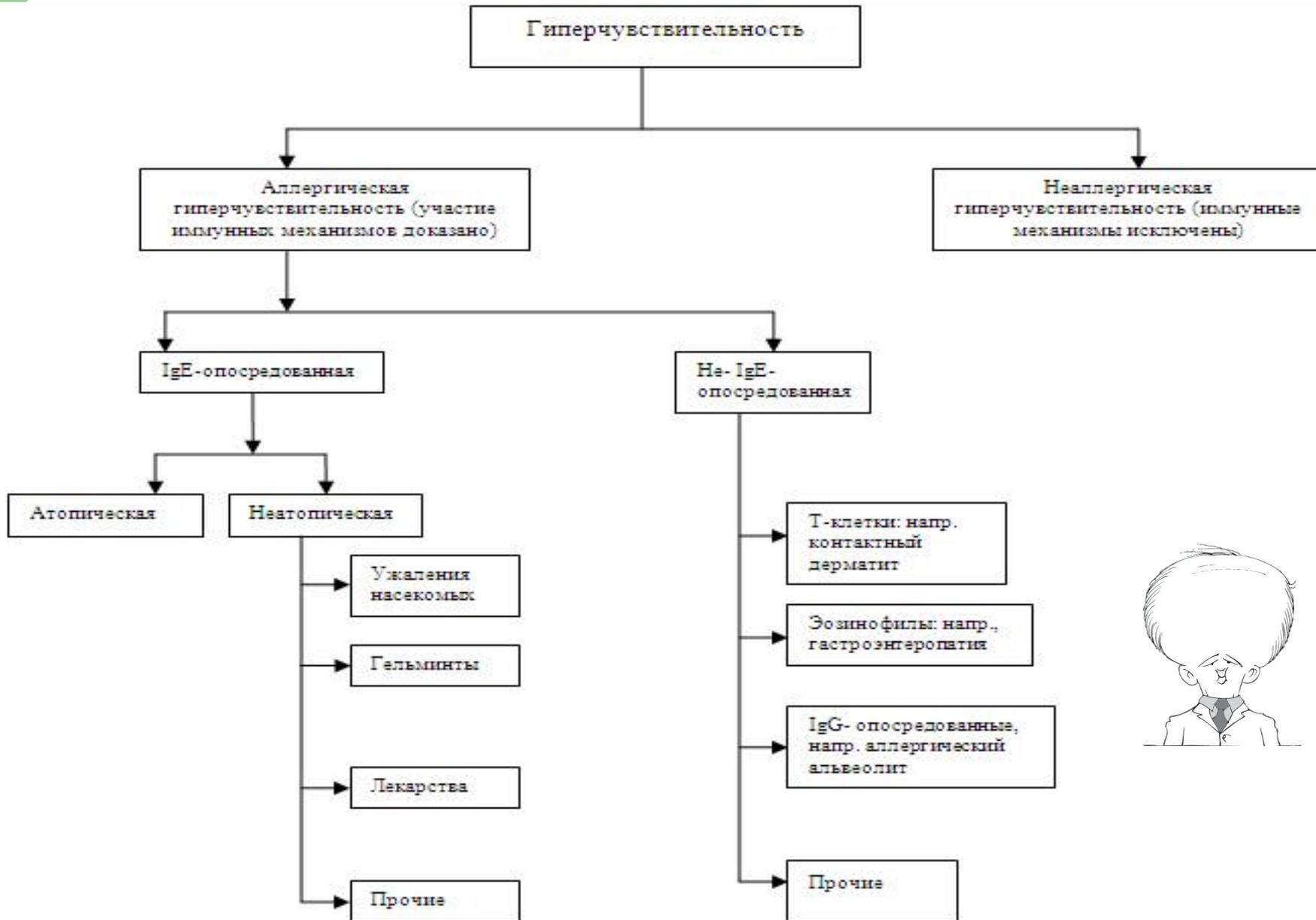


IV тип – гиперчувствительность замедленного типа (>12 часов)

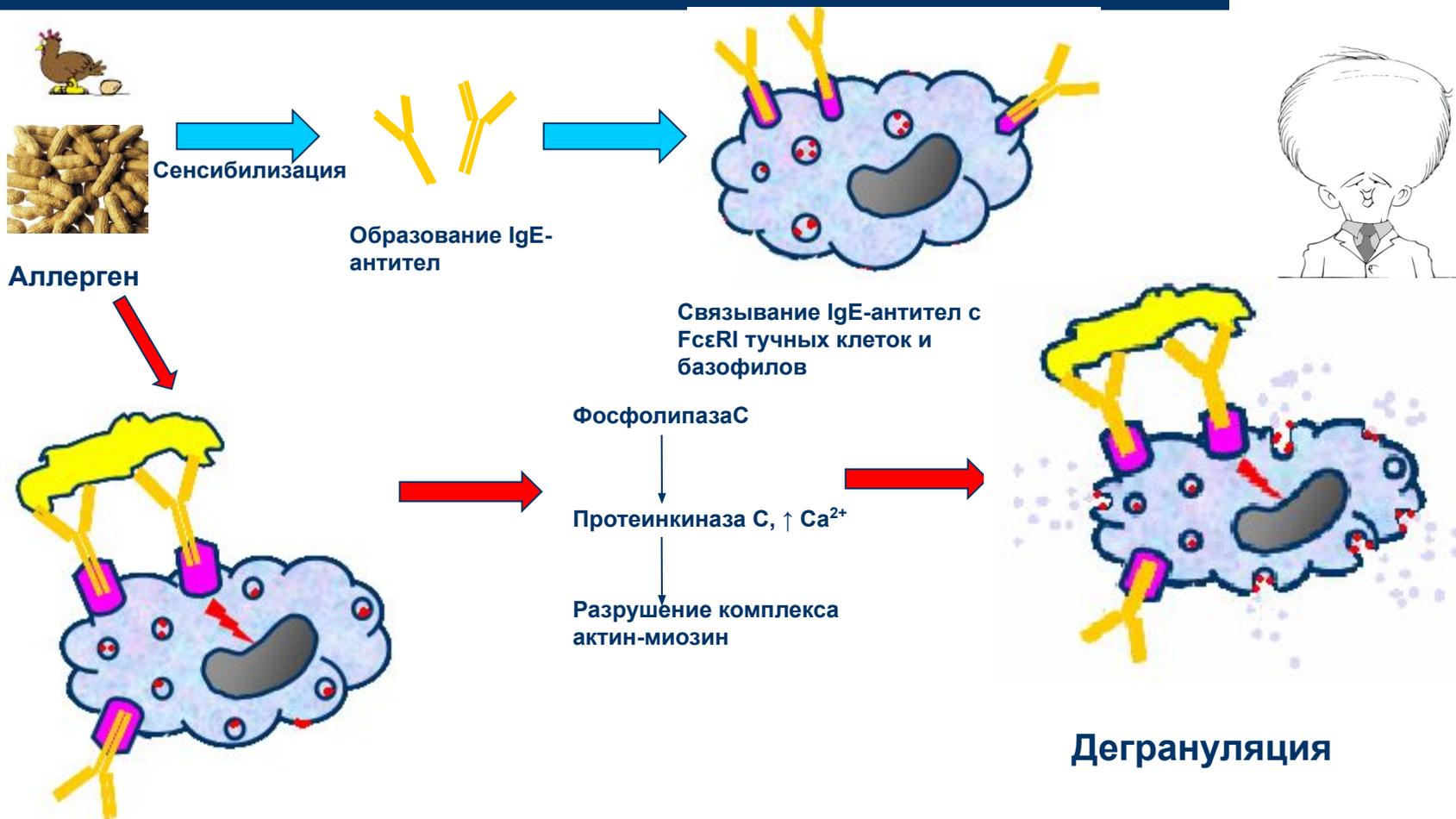


Классификация гиперчувствительности

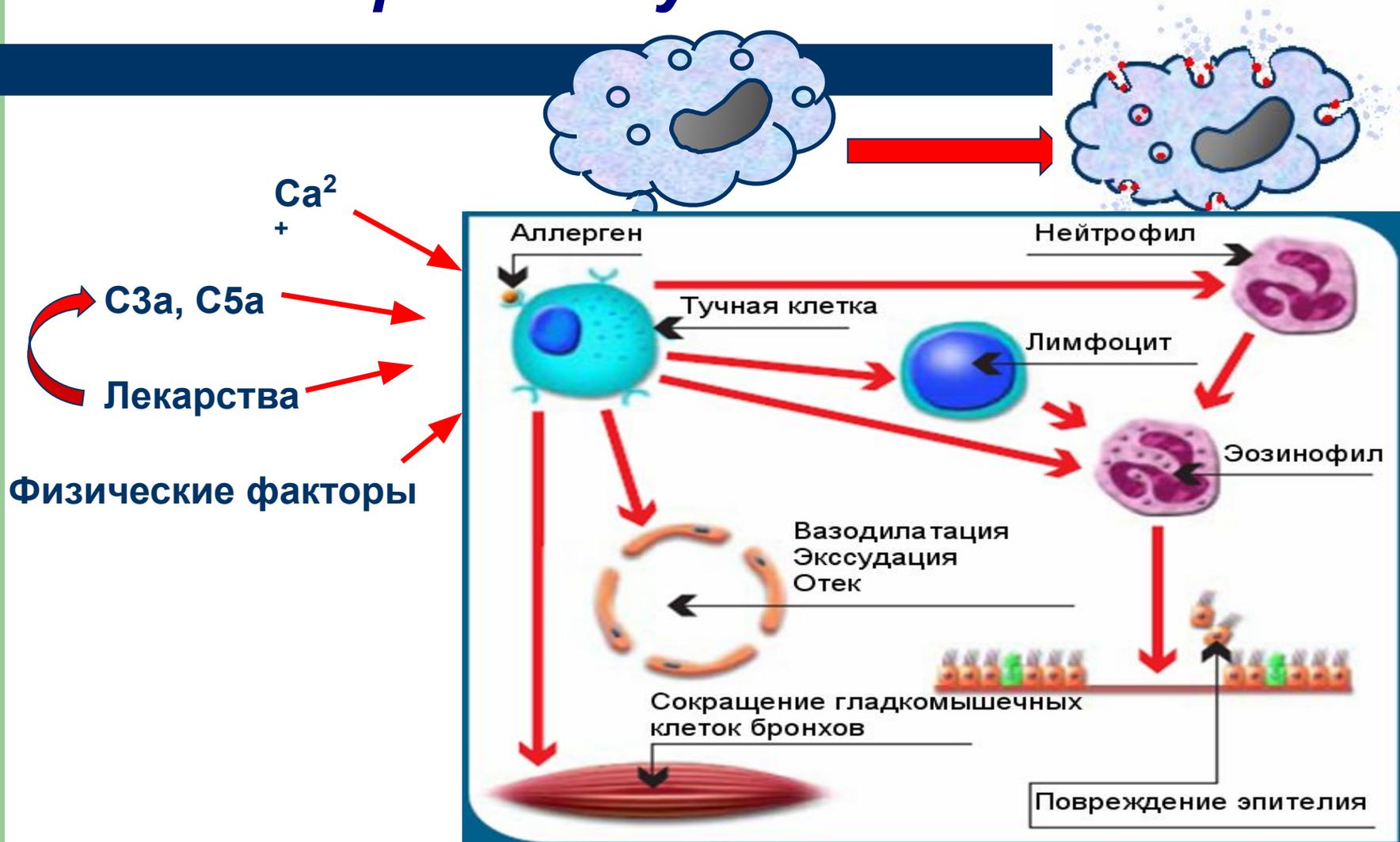
по определению Комиссии номенклатурного комитета EAACI 2001 г

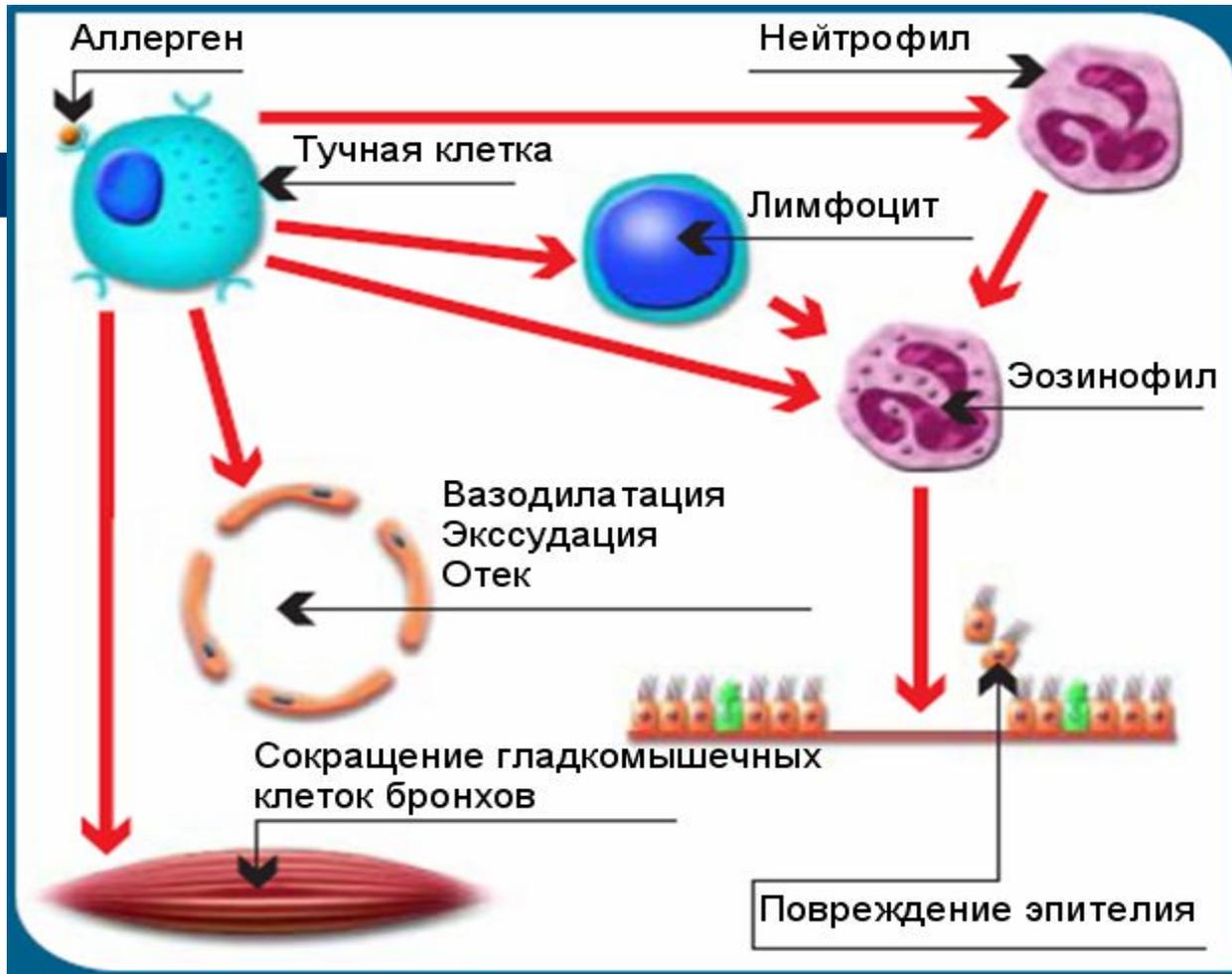


Специфическая дегрануляция базофила/тучной клетки



Неспецифическая дегрануляция базофилов/тучных клеток





Продукты, выделяемые базофилами/тучными клетками при дегрануляции

Немедленно: гистамин, серотонины,
гепарин, хондроитинсульфат, фактор
активации тромбоцитов

В течение 10-45 минут: лейкотриены,
простагландин D2, тромбоксан A2

В течение 2-12 часов: ИЛ3, 4, 5, 6, 13, ГМ-
КСФ, хемокины



Клинические проявления аллергии

РЕСПИРАТОРНАЯ (ДЫХАТЕЛЬНАЯ) АЛЛЕРГИЯ

КОЖНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ АЛЛЕРГИИ - АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ДЕРМАТОЗЫ

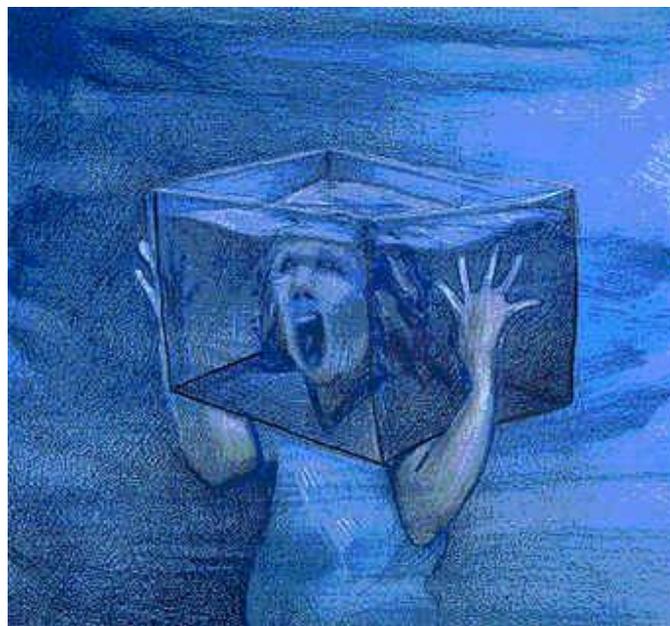
АЛЛЕРГИЯ К ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТАМ - ПИЩЕВАЯ АЛЛЕРГИЯ

АЛЛЕРГИЯ НА НАСЕКОМЫХ - ИНСЕКТНАЯ АЛЛЕРГИЯ

ЛЕКАРСТВЕННАЯ АЛЛЕРГИЯ

ИНФЕКЦИОННАЯ АЛЛЕРГИЯ

Восприятие пациента...





Классификация побочного действия лекарств (1959 г.)

- **Передозировка** – абсолютная при увеличении дозы; относительная – при нарушении функции печени, почек; кумуляционная
- **Непереносимость** – нежелательные побочные эффекты препарата, усиленные у данного больного
- **Идиосинкразия** – не отождествлять с аллергией – необычные реакции на впервые в жизни вводимые препараты, бывает при ферментопатиях
- **Аллергические реакции, в которых лекарство выполняет роль аллергена** — лекарственная аллергия



Современная классификация побочного действия лекарств

1. **Токсические реакции**

- **Передозировка**
- **Токсические реакции от терапевтических доз, связанные с замедлением метаболизма лекарств**
- **Токсические реакции в связи с функциональной недостаточностью печени, почек**
- **Отдаленные токсические эффекты (тератогенность, канцерогенность)**

2. **Суперинфекции и дисбактериозы**

3. **Реакции, связанные с массивным бактериолизом под действием лекарства (реакция Яриша-Герсгей-мера и др.)**

4. **Реакции, обусловленные особой чувствительностью субпопуляции**

- **Необычные реакции, отличные от фармакологических, обусловленные, вероятно, энзимопатиями**

5. **Псевдоаллергические реакции**

6. **Аллергические реакции**

7. **Психогенные реакции**

8. **Лекарственные эмболии**

Лекарственная аллергия (ЛА)

- Это **специфическая иммунная реакция на лекарственные препараты**, сопровождающаяся общими или местными клиническими проявлениями
- ЛА развивается только при **повторном введении препарата**
- На **впервые в жизни вводимый препарат ЛА не развивается**



Факторы риска

- **рост потребления лекарственных препаратов населением;**
- **широкое распространение самолечения вследствие доступности лекарств (возможности приобретения их без рецептов);**
- **недостаточность или запаздывание медицинской информации о побочных действиях лекарственных средств;**
- **полипрагмазия и политерапия;**
- **загрязнение окружающей среды промышленными отходами;**
- **заболевания инфекционного, паразитарного, вирусного или другого характера, сами по себе не являющиеся аллергическими, но в силу особенностей патогенеза создающие возможность формирования сенсибилизации и выработки аллергических антител в ответ на самые различные аллергены, в том числе и лекарственные (в частности, часто возникают аллергические реакции на пенициллин у больных микозами стоп);**

Факторы риска

- **применение для лечения и откорма птицы, скота антибиотиков, витаминов и других препаратов, создающих возможность сенсibilизации населения за счет примесей, содержащихся в пищевых продуктах (мясо, молоко), полученных от этих животных;**
- **наследственная, генетически обусловленная предрасположенность;**
- **наличие других видов аллергии (бактериальной, пыльцевой, пищевой и др.);**
- **применение депо-препаратов (например, бициллин), продукты метаболизма которых могут усиливать аллергенное действие друг друга;**
- **физико-химическая структура, высокая сенсibilизирующая активность препарата.**

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- **Не напоминают** фармакологического действия препарата
- **Возникают от минимальной дозы** вводимого препарата
- **Никогда не развиваются на впервые в жизни вводимый препарат**
- **Исключение составляет скрытая сенсibilизация к пенициллину.**
Остальными препаратами надо лечиться, чтобы развилась аллергическая реакция
- **Лекарственная аллергия всегда имеет объективные проявления** – кожный зуд, бронхоспазм, ринит и т. д.

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- Аллергические реакции при последующем введении препарата не только повторяются, но и утяжеляются
- Аллергические реакции на лекарства не зависят от путей введения препарата
- В отличие от истинных аллергических реакций при псевдоаллергических отсутствуют антитела и иммунные Т-лимфоциты
- Течение лекарственной аллергии трудно предсказуемо и определяется как свойствами препарата, так и состоянием организма

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- *При аллергической реакции начало **всегда с кожного зуда и высыпаний** и только позднее поднимается температура, воспаляются лимфоузлы и т.д.*
- *При инфекции наоборот – **начало с температуры**, затем сыпь*
- *Кожные высыпания легко переходят в пиодермию*
- *Хроническое течение*

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
От дозы вводимого препарата	<i>Не</i> зависят	Зависят
Реакции на первое введение препарата	<i>Не</i> развиваются	Возникают
Повторное введение препарата	<i>Усиливаются</i>	<i>Не</i> всегда
Пути введения	<i>Не</i> зависят	Зависят

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
Количество вводимых препаратов	1-2	На все группы препаратов
Клинические проявления	60-80% крапивница	30% крапивница, вегето-сосудистые проявления
Аллергоанамнез	Отягощён	Не отягощён
Сопутствующие заболевания	Атопические болезни	Заболевания ж-к-тр., печени, почек, нарушение обмена веществ

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
Реакция на плацебо	<i>Не</i> возникают	Возникают
Эозинофилия	<i>часто</i>	<i>нет</i>
Уровень IgE	<i>повышен</i>	<i>В норме</i>
АД	<i>понижено</i>	<i>повышено</i>

Диагностическими критериями ЛА служат следующие признаки

- **Установление связи клинических проявлений с приемом лекарства**
- **Смягчение или исчезновение симптомов после отмены**
- **Отягощенный по аллергии личный и семейный анамнез**
- **Хорошая переносимость препарата в прошлом**

Диагностическими критериями ЛА служат следующие признаки

- **Исключение других видов побочного действия (токсического, фармакологического, и пр.)**
- **Наличие латентного периода сенсibilизации — не менее 7 дней**
- **Сходство клинических симптомов с проявлениями аллергии, но не с другим эффектом**
- **Положительные аллергологические и иммунологические тесты**

Лекарственная аллергия

1. Антибиотики

- Пенициллин
- Бициллин
- Стрептомицин

2. П/столбнячная сыворотка (часто у атопиков с эпидермальной сенсibilизацией)

3. Ароматические амины

- Сульфаниламиды
- Новокаин
- Дикаин
- Гипотиазид
- Аминазин

4. Аспирин и препараты пиразолонового ряда

- Баралгин

5. Витамины (группы В)

6. Гормоны (инсулин, АКТГ)

7. Препараты йода





Лекарственная аллергия

- **Общие детерминанты** имеются у **пенициллина и цефалоспоринов**
- **Новокаин, сульфаниламиды и ПАСК** — также имеют близкие антигенные свойства
- **Йод и все препараты его содержащие** (раствор Люголя, йодконтрастные препараты)
- **Пиразолоновые препараты, ацетилсалициловая кислота и фенилпропионаты** (бруфен)
- **Левомецетин и синтомицин**, особенно при его местном применении
- **Кокарбоксилаза и витамин В1**
- **Супрастин и эуфиллин**
- **Аминазин и пипольфен**
- **Стрептомицин и аминогликозиды** (гентамицин, мономицин, канамицин)



***Анафилактический шок —
тяжелое, угрожающее жизни
патологическое состояние,
развивающееся при контакте с
некоторыми антигенами-аллергенами
у сенсibilизированного человека***

Анафилактический шок - острая тяжелая системная угрожающая жизни реакция гиперчувствительности, сопровождающаяся выраженными нарушениями гемодинамики (согласно международным рекомендациям (WAO): **снижение систолического артериального давления ниже 90 мм рт. ст. или на 30% от исходного уровня**), приводящими к недостаточности кровообращения и гипоксии во всех жизненно важных органах

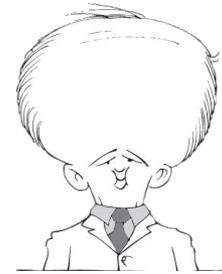
Код МКБ-10: T78.0 Анафилактический шок, вызванный патологической реакцией на пищу;

T78.2 - Анафилактический шок, неуточненный;

T80.5 - Анафилактический шок, связанный с введением сыворотки;

T88.6 - Анафилактический шок, обусловленный патологической реакцией на адекватно назначенное и правильно примененное лекарственное средство





Анафилактический шок вид

аллергической реакции немедленного типа, возникающей при повторном введении в организм аллергена

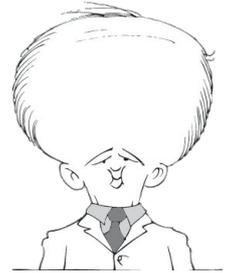
Анафилактический шок характеризуется быстро развивающимися преимущественно общими проявлениями: снижением АД, температуры тела, свертываемости крови, расстройством ЦНС, повышением проницаемости сосудов и спазмом гладкомышечных органов

Причины анафилактического шока(АШ)

- **Лекарственная аллергия**
- **Аллергия к ужалению насекомых**
- **Пищевые аллергены**
- **Холодовой АШ**
- **При лечении аллергенами**



Группы риска



- **Наличие наследственной предрасположенности**
- **Аллергическая конституция у больного**
- **Хронические очаги инфекции**
- **Полиппрагмазия, эффект суммации лекарств**

Патогенез АШ

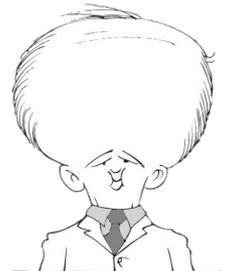
3 стадии

- ***Иммунологическая***
- ***Патохимическая***
- ***Патофизиологическая***



Варианты течения анафилактического шока

- **Типичный**
- **Гемодинамический**
- **Абдоминальный**
- **Церебральный**
- **Асфиктический**



Причины смерти от АШ

- *Смерть на высоте коллапса*
 - *Смерть от асфиксии*
 - *Смерть от отёка мозга*



Лекарственная аллергия - диагностика

- **Сбор аллергологического анамнеза**
- **Кожные тесты**
- **Провокационные тесты**
- **ТТЕМЛ по А.Д. Адо**
- **Лабораторные методы**



К кожным пробам надо относиться критически

- **Многие лекарства обладают местораздражающим действием и дают на коже ложноположительные реакции**
- **Кожные пробы, поставленные пациенту, сенсibilизированному к данному препарату, могут спровоцировать анафилактический шок. Поэтому кожные пробы потенциально опасны**
- **Помнить, что аллергия формируется в процессе лечения, а пробу мы ставим до начала лечения и она может быть отрицательной. Поэтому отрицательная кожная проба не исключает вероятность ЛА**

К кожным пробам надо относиться критически

- **Если больной ранее не получал данное лекарство, то и кожные пробы с ним проводить не надо**
- **Кожные пробы совпадают только у 30% пациентов и то у аллергиков**
- **У детей раннего возраста, иногда у пожилых людей при ЛА - кожные пробы отрицательны**



В настоящее время разрешённым тестом для диагностики ЛА является *тест торможения естественной миграции лейкоцитов по А.Д. Адо.*

Это прямой *провокационный* тест – при поступлении в организм аллергена происходит *торможение миграции лейкоцитов*

Противопоказания для ТТЕМЛ по А. Д.Адо

- **Наличие острых заболеваний**
- **Заболевания полости рта (кариес, пародонтоз) – результаты могут быть ложноположительными**
- **Постоянный длительный приём стероидов**
- **Отсутствие зубов**
- **У маленьких детей, которые не могут выполнить требования врача**
- **Пробы не ставятся с пролонгированными препаратами**

Диагностика гиперчувствительности немедленного типа

Стадия	Диагностика
<ul style="list-style-type: none">• Иммунологическая - образование IgE-антител к аллергену и их фиксация на тучных клетках и базофилах	Специфический IgE в сыворотке Общий IgE в сыворотке Специфический IgG4
<ul style="list-style-type: none">• Патохимическая – дегрануляция тучных клеток и базофилов	Исследование дегрануляции/активации базофилов
<ul style="list-style-type: none">• Патофизиологическая – клиническое проявление	Провокационные тесты Анамнез

Псевдоаллергия

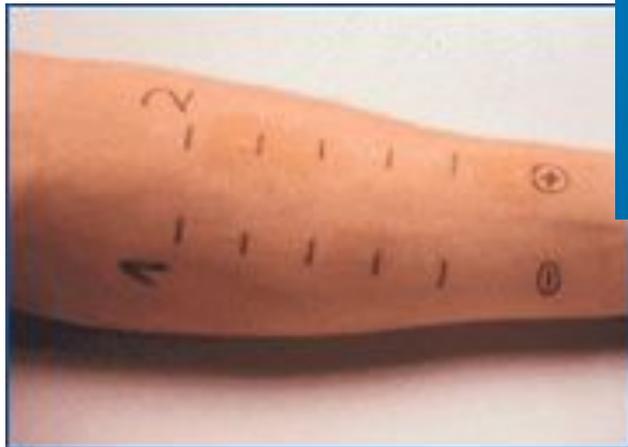
Кожное тестирование – основной метод специфической аллергодиагностики

Аллерген воздействует на клетки кожи

- *Prick (укольный) тест*
- *Скарификационные пробы*
- *Внутрикожные пробы*
- *Patch (аппликационный) тест*

Укольный тест – “золотой стандарт” аллергодиагностики

- Учёт реакции через 15 минут по отношению к (+) и (–) контролям.
- Самый специфичный из всех кожных тестов.



Внутрикожная проба



Аппликационный *path*-тест

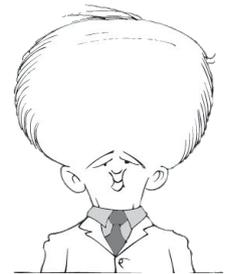
- **Для выявления аллергических реакций замедленного типа на контактные аллергены**
- **Учёт реакции через 48 и 72 часа**
- **Для диагностики пищевой аллергии при atopическом дерматите у детей**
 - **Положительная проба ассоциируется с поздней фазой клинической реакции, наблюдаемой при пищевом провокационном тесте**



Провокационные пробы

**Аллерген воздействует на клетки
шокового органа**

- **Конъюнктивальный тест**
- **Эндонозальный тест**
- **Ингаляционный тест**
- **Пищевой провокационный тест**



Назальный провокационный тест

- *Аллерген в виде пудры, с хорошей назальной абсорбционной способностью, стандартизован и дозы оттитрованы в AU*
- *Капсулы содержат порошок аллергена в 2-х дозировках и плацебо, пригодны для распыления с помощью ингалятора*



Пищевой провокационный тест



- **Тест двойного- слепого плацебо контролируемого провокационного исследования - "золотой стандарт" диагностики пищевой аллергии**
- **Желатиновые капсулы содержат 10-кратно увеличивающиеся дозы высушенного пищевого продукта и плацебо**

Профилактика АШ

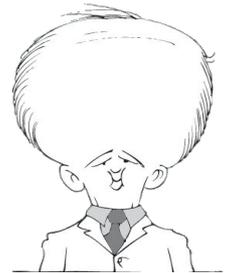


- Избегать полипрагмазии
- Назначение ЛС строго по показаниям
- **Наблюдение за пациентом** в течение не менее 30 минут после введения ЛС
- Просветительская работа среди пациентов об опасности самолечения

Чего нельзя делать

- Нельзя назначать лекарственное средство, ставшее причиной развития анафилактического шока, комбинированные средства, его содержащие, перекрестно-реагирующие препараты
- Нельзя употреблять пищевой продукт, вызвавший развитие АШ
- Нельзя использовать лекарственные средства, содержащие пыльцу растений у больных с подтвержденной сенсibilизацией к пыльцевым аллергенам
- Нельзя начинать лечение АШ с введения антигистаминных препаратов

Лабораторные методы диагностики



Алгоритм аллергодиагностики



Лабораторные методы

1. *Определение IgE и Ig G антител*
2. *Определение катионного белка эозинофилов (ЕСР)*
3. *Клеточные тесты*

Преимущества использования тестов *in vitro*

- Нет противопоказаний к обследованию
- Не вызывают дополнительной сенсibilизации, **нет риска анафилактических реакций**
- Нет возрастных ограничений, возможно проводить в самом **раннем возрасте**
- Большое число тестируемых аллергенов, выявление поливалентной сенсibilизации
- Использование сыворотки для исследования в любой лаборатории (**тесты на расстоянии**)

Показания к определению общего IgE

- **Первичная диагностика атопии**
- **Первичная и вторичная профилактика аллергии**
- **При первичных иммунодефицитных состояниях**
- **При IgE-миеломе**
- **Вспомогательный метод диагностики гельминтозов**

Показания к определению специфического IgE

- **Уточнение причинно-значимого аллергена во всех случаях, особенно при сомнительных результатах кожного тестирования**
- **Дифференциальная диагностика аллергических и неаллергических (псевдоаллергических) заболеваний**
- **Выявление *скрытой (субклинической) сенсibilизации* – обнаружение высоких уровней специфических IgE-антител при отсутствии клинических проявлений свидетельствует о повышенном риске возникновения аллергических реакций на данные аллергены**

Показания к определению специфического IgE

- **Мониторинг концентрации IgE при проведении специфической иммунотерапии**
- **Затруднение или невозможность проведения тестов *in vivo*:**
 - **ранний детский возраст**
 - **пациенты с высокой степенью сенсibilизации**
 - **обострение основного заболевания**
 - **декомпенсированные состояния болезней сердца, печени, почек и системы крови**

Показания к определению специфического IgE

- период после острой аллергической реакции**
- невозможность отмены антигистаминных, гормональных и других препаратов**
- измененная реактивность кожи**
- исследование с большим количеством аллергенов одновременно**

Ложноположительные результаты

- **Ложноположительные результаты могут быть из-за перекрёстного реагирования аллергенов**

Перекрестно-реагирующие аллергены

Аллергены	Перекрестно-реагирующие аллергены и продукты, содержащие их
Клещ <i>Dermatopagoides pteronyssimus</i>	Клещ <i>Dermatopagoides farinae</i> , амбарные и паразитирующие клещи, паутинные клещи (садовых и декоративных растений)
	Пыльца ольхи, орешника, бука, граба, каштана, ясеня
Пыльца березы	Свежие фрукты: яблоко, персик, вишня
	ндитерских изделиях)
	Овощи: морковь, петрушка, сельдерей, помидоры
Пыльца тополя	Пыльца ив, осины
Пыльца сорных трав	Дыня, арбуз, кабачки, баклажаны, подсолнечник (подсолнечное масло, семечки, халва, майонез), горчица, сырой картофель, мед и др. продукты пчеловодства
Пыльца злаковых трав	Изделия из ржаной и пшеничной муки, овса, кофе, какао
Пыльца трав семейства бобовых	Соевые бобы, горох, арахис
Пыльца полыни и амброзии	Пыльца амброзии и полыни, ромашки, подсолнечника, специи, морковь, сельдерей

Перекрестно-реагирующие аллергены

Пыльца полыни и амброзии	Пыльца амброзии и полыни, ромашки, подсолнечника, специи, морковь, сельдерей
Сельдерей	Морковь, арбуз, огурцы
Мука	Мука из ржи, овса, кукурузы, риса, орехи, соевые бобы, пшеница, ячмень, овес, гречиха, пшеница, кукуруза, рис, соевые бобы, пшеница, ячмень, овес, гречиха, пшеница, кукуруза, рис, соевые бобы
Овальбумин (аллерген куриного яйца)	Птичьи перья
Плесневые грибки	Пекарские, пивные и винные дрожжи (квашеные и ферментированные продукты, вина, сыр)
Пенициллин	Цефалоспорины, амоксициллин
Желатин	Модифицированный желатин (например, в плазмозаменителях)
Латекс	Фигу Бенджамена, экзотические фрукты (авокадо, бананы, папайя, киви)

Клеточные тесты

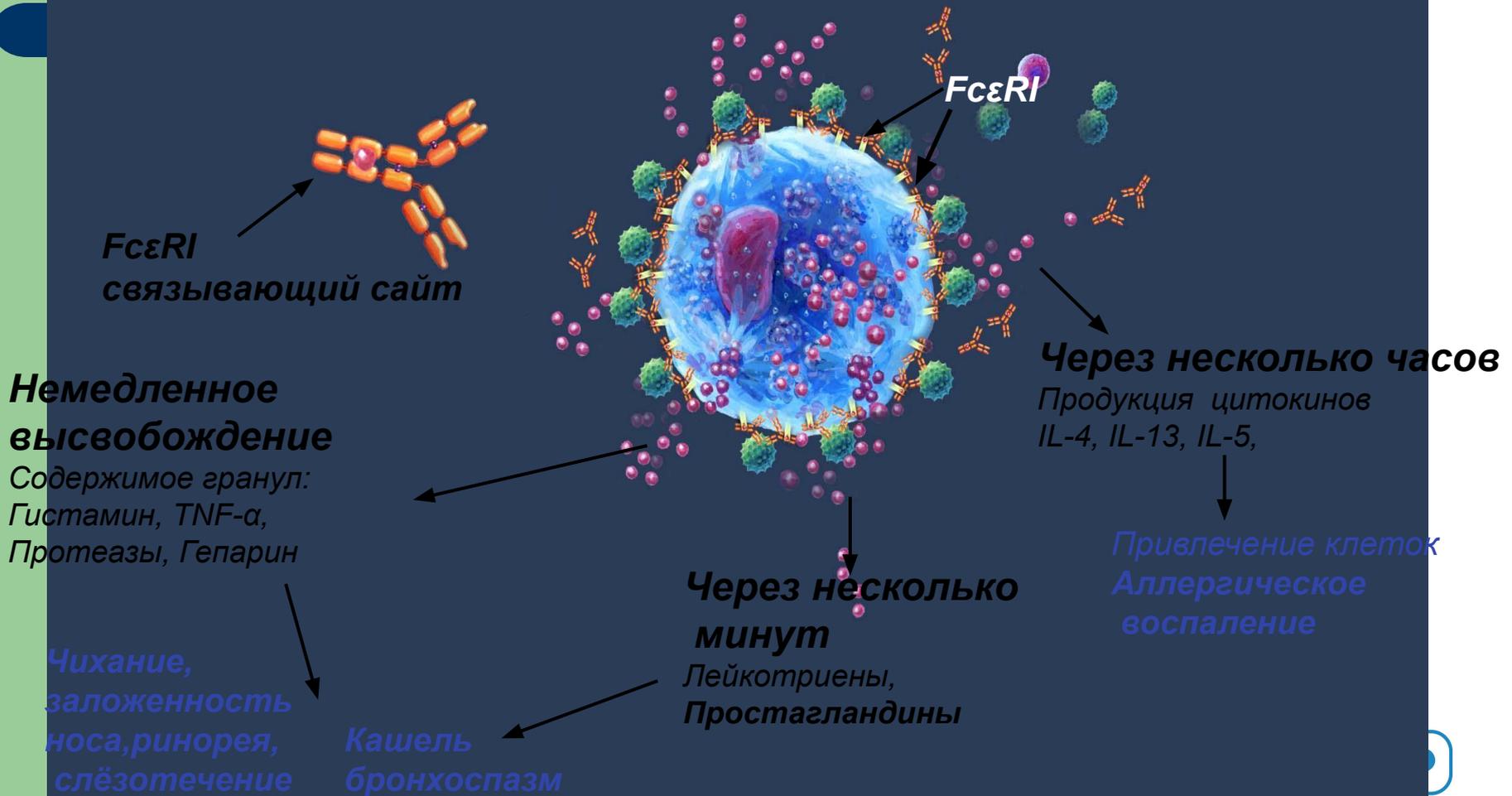
Тесты выявляют повышенную чувствительность клеток-мишеней к воздействию аллергена



IgE-зависимая дегрануляция и

ВН

МИ



Базофильные тесты

- **Реакция**

- дегрануляции**

- базофилов**

Визуальный подсчет процента дегранулированных клеток после инкубации с аллергеном относительно контроля по окраске толлуидиновым синим.

- **Базофил**
активирующий
тест

Цитометрическое определение процента дегранулированных клеток после инкубации их с аллергеном по экспрессии CD63 или CD203c.

- **Тесты**
высвобождения
медиаторов:
гистамина,
лейкотриенов

Количественное или процентное определение высвободившихся медиаторов из клеток после инкубации их с аллергеном.

CAST (Cellular Antigen Stimulation Test)

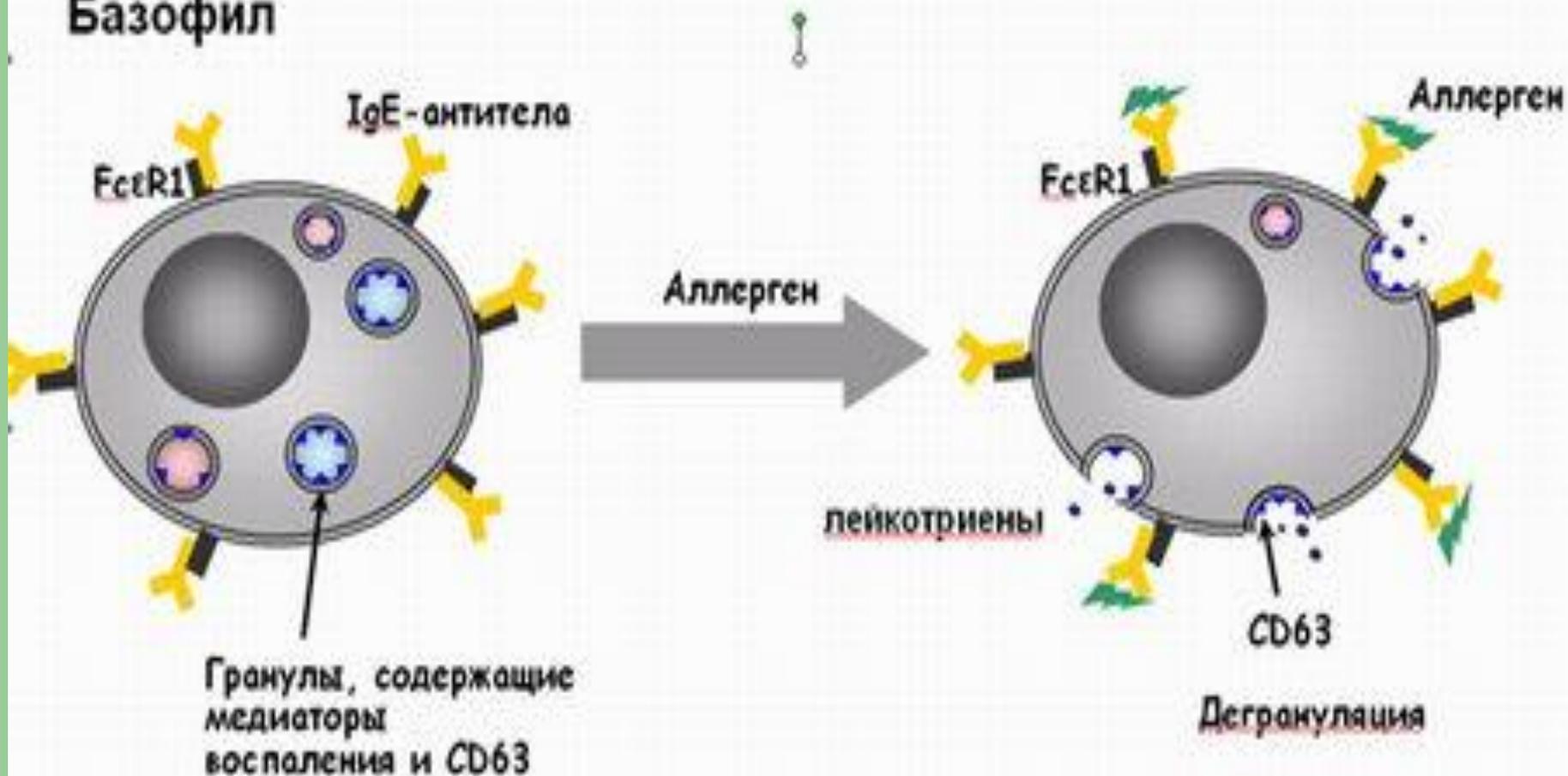
Технология CAST (Cellular Antigen Stimulation Test), метод антигенной стимуляции клеток) основана на определении **сульфидолейкотриенов** (LTC₄, LTD₄, LTE₄), секретируемых примированными IL-3 базофилами под действием аллергенов *in vitro*. Его также называют провокационным тестом *in vitro*. Метод патентован, авторы - проф. De Weck и д-р Sainte-Laudy. Благодаря синтезу сульфидо-лейкотриенов (sLT) *de novo* анализ CAST® обладает высочайшей специфичностью по сравнению с классическим тестом высвобождения гистамина

Протокол исследования включает три этапа: выделение популяции лимфоцитов из стабилизированной ЭДТА крови, стимуляция лимфоцитарной суспензии специфическими аллергенами и иммуноферментный анализ синтезированных базофилами во время стимуляции лейкотриенов

Тест высоко чувствителен и специфичен, особенно при **лекарственной гиперчувствительности**

активация базофила аллергеном

Базофил



Диагностика иммуноагрессий

АЛЛЕРГИЯ

- Специфические IgE
- Активация базофилов *in vitro*
- Медиаторы аллергии (Hs, ФЛА₂ – эйкозаноиды, др.)

АИЗ

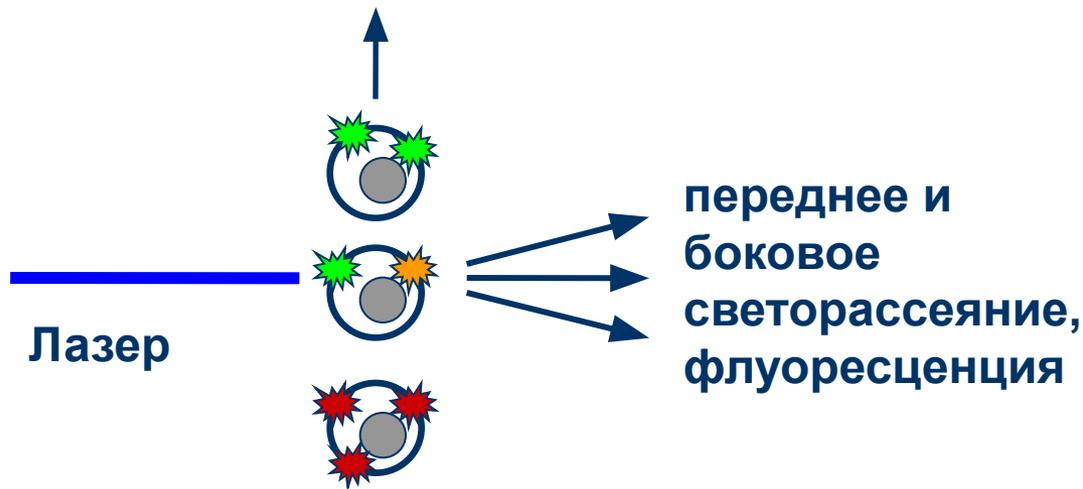
- Органоспецифические аутоантитела
- Органонеспецифические аутоантитела
- Маркеры иммунного воспаления (ЦИК, СРБ, др.)
- Факторы предрасположенности – HLA

ЛПЗ

- Количественно-морфологические характеристики
- Линейно-ассоциированные маркеры
- Дифференцировочные маркеры

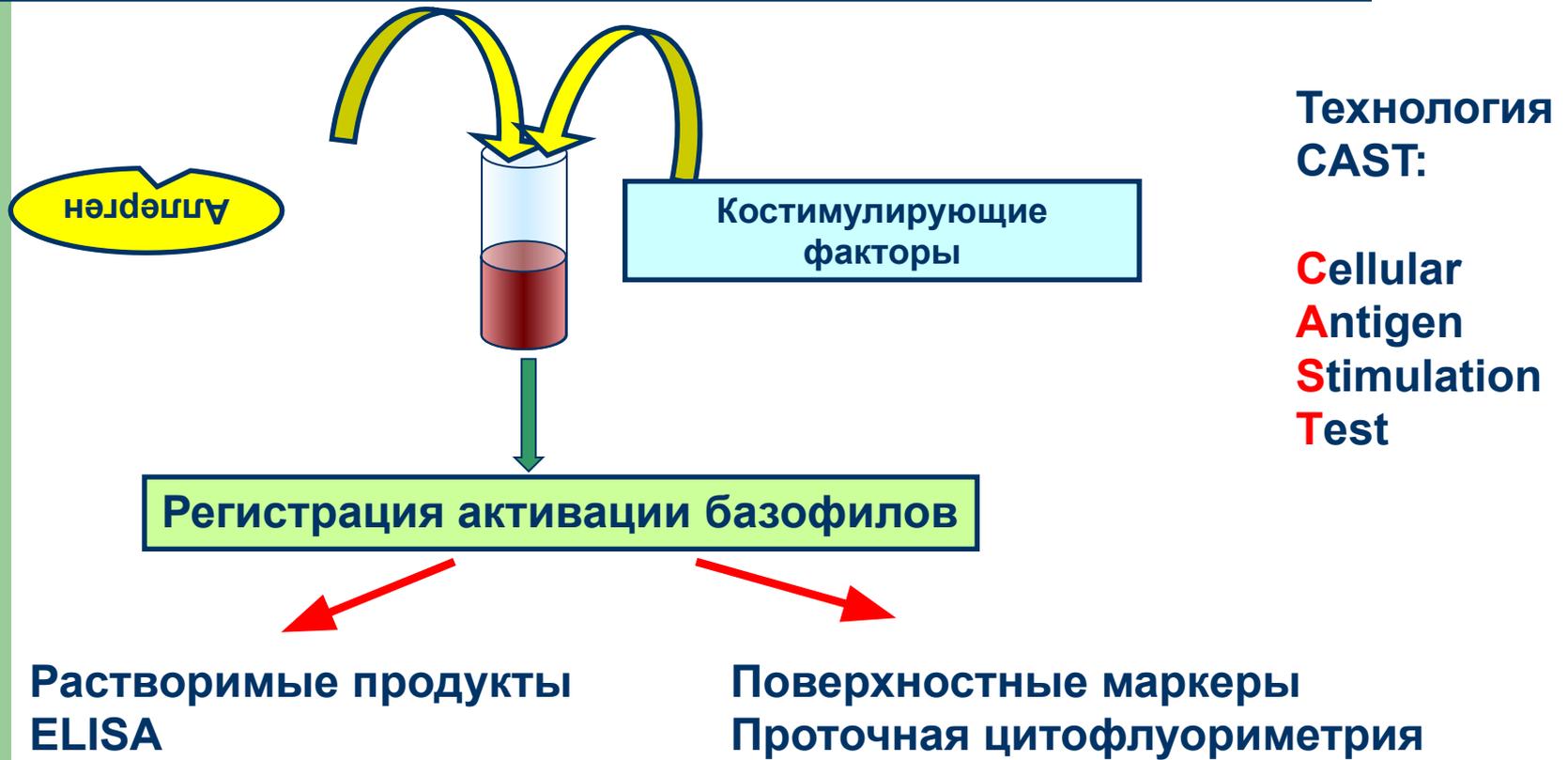
Проточная цитофлуориметрия

Исследование клеток или частиц в потоке по параметрам светорассеяния и флуоресценции



Исследование малых популяций клеток

Исследование активации базофилов



Тест активации базофилов
Исследование активации/дегрануляции базофилов
с помощью проточной цитофлуориметрии

Исследование маркеров активации/дегрануляции

↑ CD45, CD11b, CD11c, **CD63, CD203c**, CD13, CD164, CD107a

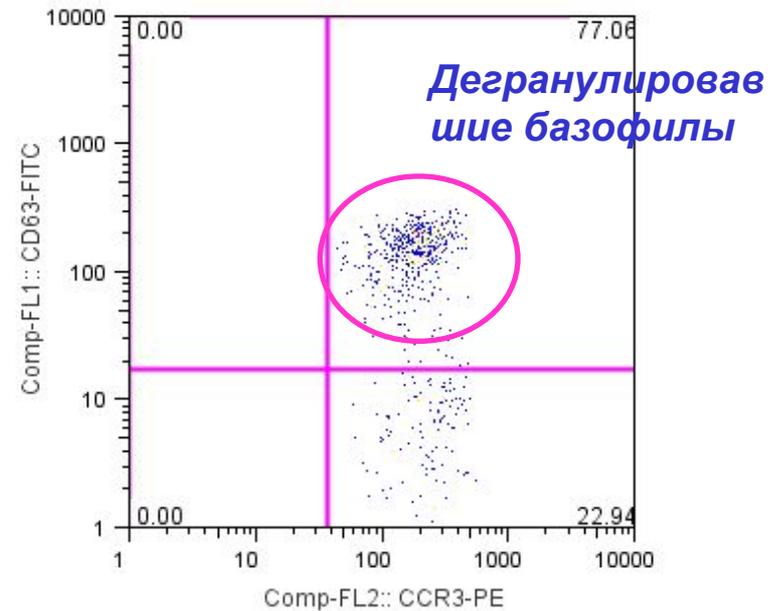
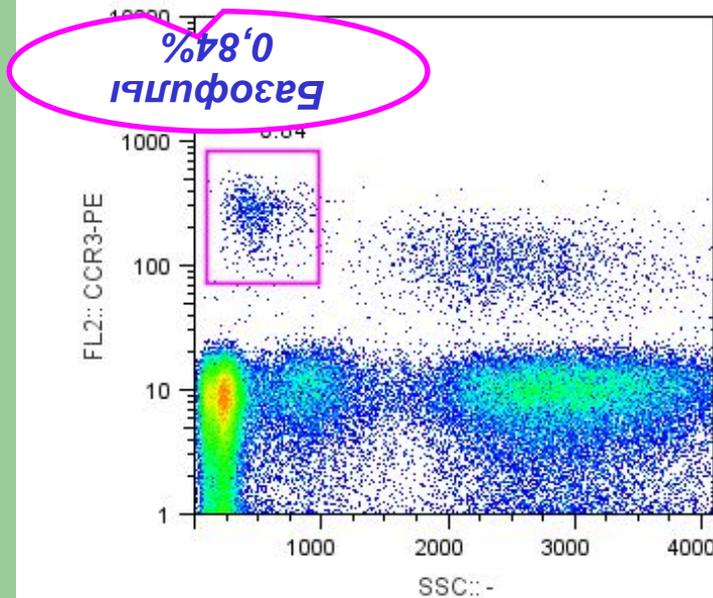
CD63 – классический маркер дегрануляции

CD203c – специфический маркер активации
базофилов



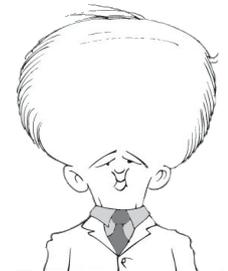
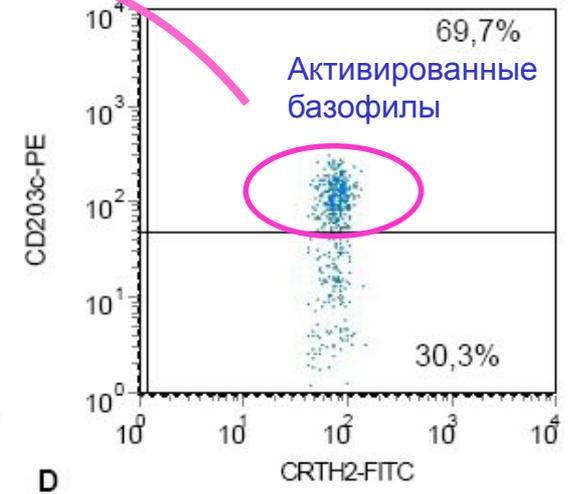
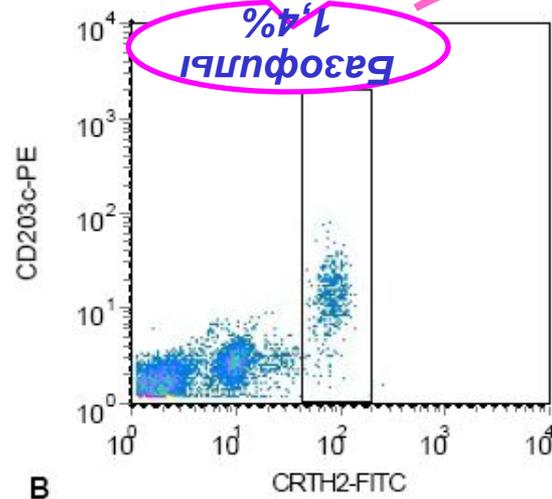
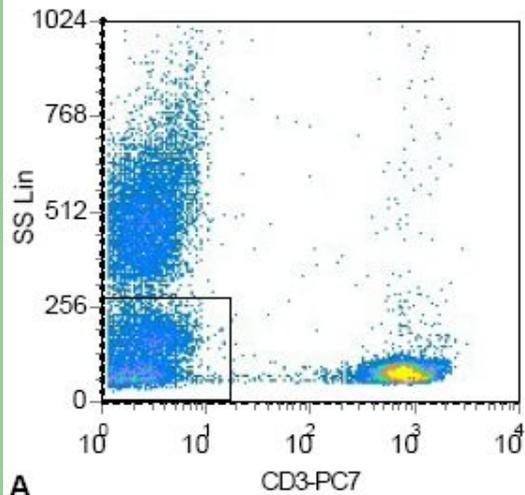
Тест активации базофилов

Исследование активации/дегрануляции базофилов с помощью проточной цитофлуориметрии



Тест активации базофилов

Исследование активации/дегрануляции базофилов с помощью проточной цитофлуориметрии



Тест активации базофилов
Исследование активации/дегрануляции базофилов
с помощью проточной цитофлуориметрии

Выбор маркера:

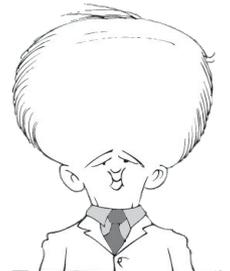
CD63 или CD203c?

CD203c – более специфичный для базофилов маркер

CD63 – более исследованный

В отношении разных аллергенов – разная значимость маркеров

Специфичность – 95-100%, Чувствительность 85-98%



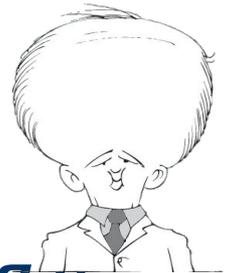
Тесты активации базофилов и антигенной стимуляции клеток – достоинства и недостатки

Достоинства

- **Хорошая альтернатива провокационным тестам**
- **Единственный тест для дифференциальной диагностики псевдо- и истинной аллергии (особенно в отношении лекарственных средств)**

Недостатки

- **Функциональный тест – значимость преаналитической стадии**
- **Отсутствие стандартов**
- **Небольшой опыт применения, разногласия в значимости маркеров**



Тесты функциональной активности лейкоцитов при действии аллергенов

- **Реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ)**

Подсчёт процента подавления миграции лейкоцитов крови при инкубации их с аллергеном относительно контроля по определению длины пробега лейкоцитов в капиллярах.

- **Тесты высвобождения интерлейкинов**

Количественное определение продукции IL-4, IL-5, IL-13 при инкубации лейкоцитарной взвеси крови с аллергеном.



Уже сегодня диагностический потенциал для оценки нарушений в иммунной системе является поистине безграничным. Однако остаются вопросы: «кто будет определять, что нужно исследовать у конкретного пациента», «кто будет интерпретировать результаты» и «кто за это будет платить»

Спасибо за внимание!

