

УДК: 612.398.132:613.262:634.31]-097.3

А. С. Прилуцкий, Н. Б. Абылгазинова, К. Е. Ткаченко, А. А. Пузик
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Диагностика специфических IgE-антител к апельсину у лиц различного возраста

Ключевые слова: специфический IgE, аллергия, апельсин.

Распространенность аллергических заболеваний, в том числе алиментарного генеза, стремительно растет во всем мире. Так, около 20 % населения Европы страдают от различных видов аллергии [2]. Согласно данным последних исследований пищевая аллергия регистрируется у миллионов людей (около 1–2 % мировой популяции), принимая характер пандемии XXI века. Интересно отметить, что частота пищевой сенсибилизации значительно выше среди детей первых лет жизни, составляет около 6 % в возрасте до 3 лет, постепенно снижаясь в течение первой декады жизни [4].

На данный момент одним из признанных эффективных методов лечения пищевой аллергии является диета с исключением употребления причинно значимых в развитии ее продуктов. При этом, учитывая исключительную значимость свежих фруктов для поддержания общего состояния здоровья и предупреждения развития различных болезней [5], становится понятным, что вынужденное исключение их из рациона питания должно основываться на достоверных результатах диагностики специфической сенсибилизации.

Несмотря на то, что апельсин общепризнанно является одним из наиболее аллергенных продуктов, исследования, посвященные детальному описанию сенсибилизации к нему, в отечественной литературе практически отсутствуют. При этом до настоящего времени отечественных тест систем как для диагностики IgE-антител к полным экстрактам аллергенов апельсина, так и для выявления сенсибилизации к отдельным его антигенам, разработано не было.

Цель исследования: изучить частоту и особенности возрастной сенсибилизации к сумме антигенов апельси-

на путем выявления IgE специфических антител среди лиц с отягощенным аллергическим анамнезом.

Материалы и методы исследования

Авторами отобраны и исследованы сыворотки 235 пациентов в возрасте от 7 месяцев до 78 лет, имеющих отягощенный аллергологический анамнез и предъявляющих жалобы на частое развитие различных аллергических реакций, преимущественно атопического дерматита, крапивницы и пр.

Все пациенты были поделены на три возрастные группы: младше 5 лет, от 5 до 10 лет, от 10 лет и старше (группа младше 2 лет отдельно не исследовалась по причине малого количества больных в данной категории). Согласно проведенному предварительному анализу предполагалось выявление 90 % сенсибилизации к аллергенам апельсина в группе младше 5 лет и 50 % сенсибилизации в группе от 10 лет и старше. При этом, учитывая наличие 3 исследуемых групп, был задан уровень значимости 1 % и мощность 90 %. На основании чего был произведен расчет достаточного объема выборки, который составил 32 человека в каждой группе. Соответственно количество исследуемых лиц в возрастных группах составило: младше 5 лет – 38 человек; от 5 до 10 лет – 37; от 10 лет и старше – 160.

У каждой группы пациентов определяли уровни общего IgE, а также уровни специфических IgE к апельсину. Уровни общего IgE исследовались у 161 пациента с помощью иммуноферментной тест-системы «ОБЩИЙ IgE» производства ООО «Укрмед-Дон», Донецк. Определение уровней специфических IgE к комплексу аллергенов апельсина в сыворотке крови пациентов

проводили с помощью первой отечественной тест-системы четвертого поколения «АПЕЛЬСИН-IgE» ООО «Укрмед-Дон», Донецк. Подробная характеристика иммуноферментной тест-системы представлена в таблице 1.

Таблица 1 Характеристика иммуноферментной тест-системы для определения содержания специфического IgE к аллергенам апельсина производства ООО «Укрмед-Дон»	
Параметр	Характеристика
Принцип метода	Твердофазный, ИФА
Общее время анализа	3 часа 30 минут
Диапазон измерений, МЕ/мл	0–100
Оптическая плотность диапазона	0,04–3,50
Чувствительность, МЕ/мл	0,05–0,1
Коэффициент вариации	не более 5 %
Объем сыворотки для исследования в дублях	100 мкл

Статистическая обработка данных была выполнена с помощью лицензированной программы MedStat. Исследовались частоты повозрастного распределения сенсибилизации к комплексу аллергенов апельсина. Множественные сравнения частот повозрастного распределения выполнялись при помощи критерия χ^2 , а также процедуры Мараскулио–Ляха–Гурьянова. В каждой возрастной группе и для полной выборки в связи с непараметрическим характером их распределения подсчитывались медиана, ошибка медианы, правая и левая границы 95 % доверительного интервала значений специфических IgE к апельсину. Множественные сравнения данных показателей проводили с помощью рангового однофакторного анализа Крускала–Уоллиса, а также критерия Данна. Кроме того, методом Кендалла был рассчитан коэффициент корреляции между уровнями общего IgE и уровнями специфических IgE-антител к апельсину, как для всей выборки, так и в отдельных возрастных группах.

Результаты и их обсуждение

Регулярное употребление свежих фруктов и овощей общепризнано в качестве основы ежедневного рациона питания и способствует как улучшению общего состояния здоровья населения, так и предупреждению развития некоторых заболеваний. Существует множество исследований, установивших корреляционную зависимость между употреблением в пищу свежих фруктов и уменьшением частоты сердечно-сосудистых заболеваний, бронхиальной астмы, сахарного диабета и онкологической патологии [4]. Такая польза обусловлена не только нутритивными качествами фруктов, связанными с наличием витаминов, минералов и пищевых волокон, но также «ненутритивным» компонентом, заключающемся в высоком содержании вторичных метаболитов (фенолов, флавоноидов, каротиноидов), выполняющих важную антиоксидантную роль [4].

Апельсины являются одним из наиболее широко употребляемых фруктов и круглогодично включены в рацион питания как во всем мире, так и в нашей стране. Этот факт, по всей видимости, привел к тому, что апельсин регистрируется как один из самых аллергенных продуктов питания растительного происхождения [4]. Следует сказать, что данный фрукт может быть причиной как алиментарной аллергии, так и вызывать развитие атопических реакций типа поллинозов [4].

В ходе проведенной работы было установлено, что у 151 пациента из 235 обследованных в сыворотке крови определяли диагностически значимые уровни специфических IgE-антител к апельсину, соответственно было лабораторно подтверждено наличие аллергии к данному продукту у $(64,26 \pm 3,13) \%$ пациентов.

Множественные сравнения частоты сенсибилизации к аллергенам апельсина для 3 групп, проводимые с помощью критерия χ^2 , показали наличие статистически значимого различия ($p < 0,001$). При этом проведение процедуры Мараскулио–Ляха–Гурьянова с целью оценки повозрастного распределения частоты выявления диагностически значимых уровней специфических антител класса E (табл. 2) показала достоверно более высокую частоту сенсибилизации в группе младше 5 лет относительно группы от 10 лет и старше ($p < 0,001$), а также в группе от 5 до 10 лет по сравнению с группой

Таблица 2 Частота выявления IgE-антител к аллергенам апельсина у лиц различных возрастных групп						
Возрастная группа	Удельный вес детей с различными уровнями IgE-антител					
	Отсутствие сенсибилизации		Сенсибилизация		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
До 5 лет	3	$7,89 \pm 4,37$	35	$92,11 \pm 4,37^*$	38	$16,17 \pm 2,40$
5–10 лет	6	$16,22 \pm 6,06$	31	$83,786 \pm ,06^{**}$	37	$15,74 \pm 2,38$
Старше 10 лет	75	$46,88 \pm 3,95$	85	$53,12 \pm 3,95$	160	$68,09 \pm 3,04$
Всего	84	$35,7 \pm 3,13$	151	$64,26 \pm 3,13$	235	$100,00 \pm 0,00$

Примечание: * – достоверные различия с группой старше 10 лет ($p < 0,001$); ** – достоверные различия с группой старше 10 лет ($p < 0,002$).

Таблиця 3
Уровни IgE-антител к аллергенам апельсина у лиц различных возрастных групп

Возрастная группа	Количество (n)	Медиана	Ошибка медианы	95 % ДИ
До 5 лет	38	0,26*, **	0,04	0,24; 0,31
5–10 лет	37	0,21***	0,08	0,18; 0,25
Старше 10 лет	160	0,37	0,05	0,33; 0,39
Всего	235	0,32	0,04	0,30; 0,34

Примечания: ДИ – доверительный интервал; * – достоверные различия с группой от 5 до 10 лет ($p < 0,05$); ** – достоверные различия с группой старше 10 лет ($p < 0,05$); *** – достоверные различия с группой старше 10 лет ($p < 0,01$).

от 10 лет и старше ($p < 0,002$). Данный результат подтверждает литературные данные, согласно которым частота пищевой сенсибилизации существенно выше в детском возрасте и снижается в течение первой декады жизни [4].

Ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса показал наличие достоверных отличий в 3 исследуемых группах ($p < 0,001$). Кроме всего прочего, с помощью критерия Данна были выявлены статистически значимые различия уровней специфических IgE к антигенам апельсина между группами младше 5 лет и от 5 до 10 лет ($p < 0,05$), а также от 5 до 10 лет и от 10 лет и старше ($p < 0,01$) (табл. 3).

Кроме того, было установлено наличие достоверной ($p < 0,01$) прямой корреляционной зависимости между значениями общего IgE и уровнями специфических IgE-антител к апельсину ($\tau = 0,305$) для полной выборки. Интересно отметить, что в группах от 5 до 10 лет и от 10 лет и старше данная связь сохранялась ($\tau = 0,260$ при $p = 0,04$ и $\tau = 0,347$ при $p < 0,01$ соответственно), в то время как в группе младше 5 лет такая отсутствовала.

Важно отметить, что в процессе данного исследования методом аффинной хроматографии был выделен антиген апельсина – Cit s 1. На данный момент принято выделять три основных аллергена апельсина. К ним относятся Cit s 1 – герминоподобный протеин, Cit s 2 – профилин [3], Cit s 3 – представитель семейства паналлергенов, протеинов-переносчиков липидов [4]. Cit s 1 представляет собой гликопротеин с молекулярным весом 24 кДа. Отмечено, что аллерген может быть представлен различными изоформами с молекулярным весом от 20 до 120 кДа [6]. Согласно данным ряда клинических исследований сенсибилизация к Cit s 1 определялась в 78 % случаев среди лиц с подтвержденной аллергией к апельсину [1]. Биологическая активность данного аллергена во фруктах еще не до конца изучена, однако точно установлено, что именно Cit s 1 является одним из основных аллергенов апельсина и демонстрирует высокую реактивность *in vitro* посредством гликанов, составляющих главные IgE-эпитопы [4]. Таким образом, выделение данного аллергена открывает перспективы в создании новых отечественных тест-систем для диагностики специфической сенсибилизации к нему.

Выводы

1. Установлено, что частота специфической аллергии к апельсину среди лиц с отягощенным аллергологическим анамнезом достаточно высокая и составляет ($64,26 \pm 3,13$) %.

2. Анализ повозрастного распределения уровней специфических IgE-антител к апельсину показал наличие достоверно более высокой частоты сенсибилизации в группе младше 5 лет по сравнению с группой от 10 лет и старше ($p < 0,001$), а также в группе от 5 до 10 лет по сравнению с группой от 10 лет и старше ($p < 0,002$). Установлены статистически значимые различия уровней специфических IgE-антител во всех трех возрастных группах.

3. Выявлена достоверная прямая корреляционная зависимость между значениями общего IgE и уровнями специфических IgE-антител к апельсину ($\tau = 0,305$ при $p < 0,01$), сохраняющаяся в группах от 5 до 10 лет ($\tau = 0,260$ при $p = 0,04$) и от 10 лет и старше ($\tau = 0,347$ при $p < 0,01$), и отсутствовавшая в группе младше 5 лет.

4. Полученные данные подтверждают целесообразность и перспективность использования для диагностики специфической сенсибилизации к аллергенам апельсина первых отечественных тест-систем четвертого поколения как в практике здравоохранения, так и в научно-исследовательской деятельности.

Литература

- 1 Crespo, J. Germin-like protein Cit s 1 and profilin Cit s 2 are major allergens in orange (*Citrus sinensis*) fruits [Text] / Crespo J. F., Retzek M., Foetisch K. [et al.] // *Mol. Nutr. Food. Res.* – 2006. – Vol. 50. – P. 282–290.
- 2 D'Amato, G. Urban air pollution and climate change as environmental risk factors of respiratory allergy: an update [Text] / G. D'Amato, L. Cecchi, M. D'Amato, G. Liccardi // *J. Investig Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 20. – P. 95–102.
- 3 Krishnan, K. Structure and functions of profilins [Text] / K. Krishnan, P. D. J. Moens // *Biophys Rev.* – 2009. – Vol. 1. – P. 71–81.
- 4 Lorio, R. Citrus Allergy from Pollen to Clinical Symptoms [Text] / Lorio R. A., Del Duca S., Calamelli E. [et al.] // *PLOS ONE J.* – 2013. – Vol. 8. – P. 1–10.
- 5 Mills, E. N. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe [Text] / Mills E. N., Mackie A. R., Burney P. [et al.] // *Allergy.* – 2007. – Vol. 62. – P. 717–722.
- 6 Pignataro, V. Proteome from lemon fruit flavedo reveals that this tissue produces high amounts of the Cit s 1 germin-like isoforms [Text] / V. Pignataro, C. Canton, A. Spadafora, S. Mazzuca // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – P. 7239–7244.

ДІАГНОСТИКА СПЕЦИФІЧНИХ IgE-АНТИТІЛ ДО АПЕЛЬСИНУ У ОСІБ РІЗНОГО ВІКУ

О. С. Прилуцький, Н. Б. Абилязінова,
К. Є. Ткаченко, А. А. Пузік

Резюме

Вступ. Доведено, що близько 20 % жителів Європи страждають на різноманітні алергічні захворювання. Апельсин є одним з найбільш вживаних фруктів та входить до раціону харчування в усьому світі та нашої державі впродовж цілого року. Апельсини вважаються одними з найбільш алергенних продуктів харчування рослинного походження. Одним з головних алергенів апельсину є Cit s 1.

Метою цього дослідження є опис частоти сенсibilізації до алергенів апельсину у різних вікових групах з визначенням рівнів IgE-антитіл до вищезазначених алергенів за допомогою перших вітчизняних імуноферментних тест-систем четвертого покоління.

Матеріали та методи. Авторами досліджено сироватки 235 пацієнтів у віці від 7 місяців до 78 років, що мали обтяжений алергічний анамнез. Визначення рівнів загального та специфічного IgE до алергенів апельсину проводилося за допомогою перших вітчизняних імуноферментних тест-систем четвертого покоління («Укрмед-Дон», Донецьк, Україна). Статистична обробка даних була виконана з використанням ліцензійної програми «MedStat» (Донецьк, Україна). Згідно з попереднім аналізом було визначено, що розмір вибірки $n = 32$ для кожної з груп є достатнім для вияву різниці у частоті випадків з 90 % потужністю на 1 % рівні значущості. Для повної вибірки та кожної з трьох досліджуваних груп (1 – 38 осіб у віці від 7 місяців до 5 років; 2 – 37 осіб у віці від 5 років до 10 років; 3 – 160 осіб у віці від 10 років до 78 років) було розраховано медіану, помилку медіани, правий та лівий ліміти 95 % довірчого інтервалу. Множинні порівняння у цих трьох групах проводили з використанням рангового однофакторного аналізу Крускала–Уолліса та критерію Данна. Також проводилися множинні порівняння частоти сенсibilізації у різних вікових групах. Крім того, було проведено кореляційний аналіз, спрямований на виявлення можливого зв'язку між загальним IgE та специфічним IgE у різних вікових групах з використанням коефіцієнту Кендалла (τ , $p \leq 0,05$).

Результати та обговорення. Діагностично значущі рівні IgE до алергенів апельсину було визначено у (64,26 ± 3,13) % пацієнтів. Численні порівняння частоти виявили різницю між першою (92,11 ± 4,37) і третьою (53,12 ± 3,95) групами на рівні значущості $p < 0,001$ та між другою (83,78 ± 6,06) і третьою (53,12 ± 3,95) групами на рівні значущості $p < 0,002$. Ранговий однофакторний аналіз Крускала–Уолліса виявив наявність достовірної різниці у рівнях специфічного IgE ($p < 0,001$). Критерій Данна також показав достовірну різницю між першою та другою групами ($p < 0,05$), між першою та третьою групами ($p < 0,05$) та між другою та третьою групами ($p < 0,01$).

Достовірний прямий кореляційний зв'язок між загальним IgE та специфічним IgE до антигенів апельсину було знайдено у загальній вибірці ($\tau = 0,305$, $p < 0,01$), другій ($\tau = 0,260$, $p = 0,04$) та третій вікових групах ($\tau = 0,347$, $p < 0,01$). На додаток у віковій групі від 7 місяців до 5 років такий зв'язок був відсутнім.

Висновки. Використання для діагностики специфічної сенсibilізації до алергенів апельсину перших вітчизняних тест-систем четвертого покоління є доцільним та перспективним. Отримані результати можуть бути використані як у медичній практиці, так і в науковій роботі з метою вдосконалення діагностики серед пацієнтів, сенсibilізованих до апельсину.

Ключові слова: специфічний IgE, алергія, апельсин.

Науково-практичний журнал «Астма та алергія», 2014, № 1
О. С. Прилуцький
д-р мед. наук, професор,
зав. кафедрою клінічної імунології, алергології та ендокринології
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького,
83003, Україна, Донецьк, пр. Ілліча, 16,
тел.: 8062 295 11 22, моб.: 8050 909 53 16,
e-mail: t.xeniya@mail.ru

DIAGNOSTICS OF SPECIFIC IgE-ANTIBODIES TO ORANGES IN INDIVIDUALS OF VARIOUS AGES

A. S. Prilutskiy, N. B. Abylgazina,
K. Y. Tkachenko, A. A. Puzik

Summary

Introduction. It is known that above 20 % of Europeans suffer from various allergies. Oranges as one of the most widely consumed fruit being included in the diet year round both worldwide and in our country. Orange is registered as one of the most allergenic products of plant origin. One of the major orange allergen is Cit s 1.

The purpose of this research is to describe the frequency of sensitization to orange allergens in the different age groups using the first national ELISA test systems of the fourth generation for the detection of IgE-antibodies to the above mentioned allergens.

Material and methods. We investigated the serum of 235 patients aged from 7 months to 78 years with allergic background. The level detection of total and specific IgE to the orange allergens was carried out using the first national ELISA test systems of the fourth generation («Ukrmed-Don», Donetsk, Ukraine). Statistical analysis was performed by the licensed program «MedStat» (Donetsk, Ukraine). According to the preliminary analysis the sample size being $n = 32$ in each group was sufficient to detect the difference of occurrence frequency at a power of 90 %, for significance level of 1 %. Both for the total sample of specific IgE and for the three different age groups (the first group – 38 persons 7 months to 5 years old; the second group – 37 persons 5 to 10 years old; the third group – 160 persons 10 to 78 years old), the median, the median error, left and right limits of confidence interval of 95 % were calculated. Numerous data comparisons for those three samples were performed due to the one-way analysis of the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance by ranks and the Dunn's test. Multiple comparisons of occurrence frequency of sensitization were performed.

The correlation analysis aimed at revealing possible links between total IgE and specific IgE in the different age groups using the Kendall's rank correlation coefficient (τ , $p < 0,05$) was carried out.

Results and discussion. Diagnostic relevant levels of IgE to the orange allergens were detected in (64,26 ± 3,13) % of patients. Multiple comparisons of occurrence frequency revealed the differences between the first group (92,11 ± 4,37) and the third (53,12 ± 3,95) age group at significance level $p < 0,001$ and between the second (83,78 ± 6,06) and the third (53,12 ± 3,95) age group at significance level $p < 0,002$. The Kruskal-Wallis one-way analysis of variance by ranks test revealed the significance differences of specific IgE levels ($p < 0,001$). The Dunn's test also showed significance differences in the first and the second age groups ($p < 0,05$), in the first and the third age groups ($p < 0,05$) and in the second and third age groups ($p < 0,01$). The significant direct correlation link between total IgE-antibodies and specific IgE-antibodies to the orange antigens was found in the total sample ($\tau = 0,305$, $p < 0,01$), in the second ($\tau = 0,260$, $p = 0,04$) and the third age groups ($\tau = 0,347$, $p < 0,01$). The significant correlation link in the first age group (7 months to 5 years old) was not found.

Conclusions. The diagnostic benefit of specific sensitization to orange allergens of the first national test-systems of the fourth generation is reasonable and promising. The obtained data may be used both in medical practice and in further research for diagnostic improvement among sensitized patients to orange allergens.

Key words: specific IgE, allergy, orange.

Theoretical and practical J. «Asthma and Allergy», 2014, 1
A. S. Prilutskiy
Professor, MD,
Head of the Department of Clinical Immunology, Allergology and
Endocrinology
M. Gorky Donetsk National Medical University,
83003, Ukraine, Donetsk, Illich Ave, 16,
tel.: +38062 295 11 22, mob.: +38050 909 53 16,
e-mail: t.xeniya@mail.ru