

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ФЕДОТОВА МАРИНА МИХАЙЛОВНА

РОЛЬ ИНВАЗИИ *OPISTHORCHIS FELINEUS* В РАЗВИТИИ ПИЩЕВОЙ
СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ

14.01.08 – педиатрия

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:
член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук,
профессор Л.М. Огородова;
доктор медицинских наук,
О.С. Федорова

ТОМСК – 2014 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
Глава 1. Современные представления о пищевой сенсibilизации и факторах, влияющих на механизмы её развития (обзор литературы).....	14
1.1. Современные представления о механизмах развития пищевой сенсibilизации у детей.....	14
1.1.1. Пищевая аллергия: эпидемиологическое значение проблемы.....	14
1.1.2. Современная номенклатура пищевых аллергенов.....	16
1.1.3. Механизмы развития пищевой сенсibilизации.....	20
1.1.4. Факторы местной иммунной защиты кишечника и механизмы формирования пищевой толерантности.....	24
1.2. Влияние гельминтной инвазии на клиническое течение аллергических заболеваний и развитие сенсibilизации к пищевым аллергенам.....	29
1.2.1. Распространенность гельминтозов и аллергических заболеваний: результаты эпидемиологических исследований.....	29
1.2.2. Исследование аспектов влияния гельминтной инвазии на развитие сенсibilизации.....	31
1.2.3. Эпидемиологические и молекулярные взаимоотношения хронической инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> и аллергических заболеваний.....	36
Глава 2. Клинические группы и методы исследования.....	42
2.1. Общая характеристика исследования.....	42
2.1.1. Описание «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе».....	42
2.1.2. Схема настоящего исследования.....	43
2.1.3. Методы исследования.....	44
2.2. Основные этапы исследования.....	46
2.2.1. Исследование распространенности инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> различной интенсивности (этап 1).....	46
2.2.2. Исследование влияния <i>Opisthorchis felineus</i> на формирование пищевой сенсibilизации у детей (этап 2).....	51

2.2.3. Исследование пищевой сенсибилизации с использованием компонентной аллергодиагностики (этап 3).....	59
2.2.4. Статистическая обработка полученных результатов.....	61
Глава 3. Исследование распространенности инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> различной интенсивности (этап 1).....	63
3.1. Клиническая характеристика выборок.....	63
3.2. Исследование распространенности инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> методом ПЦР в режиме реального времени у детей, проживающих в г. Томске и сельских районах Томской области	64
Глава 4. Исследование влияния инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> на формирование пищевой сенсибилизации у детей (этап 2).....	68
4.1. Клиническая характеристика групп.....	68
4.1.1. Клиническая характеристика больных хроническим описторхозом....	69
4.1.2. Характеристика коморбидной патологии.....	71
4.1.3. Характеристика сопутствующей патологии.....	74
4.1.4. Анализ симптомов пищевой аллергии у детей с хроническим описторхозом и без гельминтной инвазии.....	75
4.1.5. Формирование толерантности к пищевым аллергенам куриного яйца и коровьего молока в зависимости от наличия хронического описторхоза...	82
4.2. Исследование влияния инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> на формирование сенсибилизации к пищевым аллергенам у детей в исследуемых группах.....	85
4.2.1 Исследование пищевой сенсибилизации в группах детей, больных хроническим описторхозом, и без гельминтной инвазии методом кожного аллерготестирования.....	87
4.2.2. Оценка уровня специфического IgE к пищевым аллергенам в сыворотке крови у больных хроническим описторхозом и детей, не имеющих гельминтной инвазии.....	90
4.2.3. Исследование сенсибилизации к аэроаллергенам.....	93
4.2.4. Оценка уровня общего IgE сыворотки крови у детей исследуемых групп.....	94

4.3. Исследование факторов риска формирования пищевой сенсибилизации	99
Глава 5. Исследование пищевой сенсибилизации с использованием компонентной аллергодиагностики (этап 3).....	105
5.1. Клиническая характеристика групп.....	105
5.2. Результаты компонентной аллергодиагностики у больных хроническим описторхозом и у детей, не имеющих гельминтной инвазии...	106
5.3. Особенности клинических симптомов пищевой аллергии в зависимости от сенсибилизации к аллергенам различных классов.....	108
Глава 6. Обсуждение.....	124
Заключение.....	142
Список сокращений.....	145
Список литературы.....	147

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Формирование пищевой сенсibilизации является одной из наиболее актуальных проблем практической педиатрии [19, 155, 110]. Сенсibilизация к пищевым аллергенам на первом году жизни ребенка является иницирующим звеном «атопического марша» с последующим развитием atopического дерматита (АД), бронхиальной астмы (БА), аллергического ринита (АР) [1, 163]. Аллергическая гиперчувствительность к пищевым продуктам нередко является причиной системных аллергических реакций, жизнеугрожающих состояний, а также является фактором риска тяжелого течения БА в старшем возрасте [134, 92].

Распространенность аллергических реакций к продуктам питания у детей в различных регионах мира составляет от 2 до 6% [60, 164, 155]. По данным отечественных исследований пищевая аллергия (ПА) регистрируется у 10% детей, причем от 60 до 94% случаев данной патологии манифестирует в возрасте до одного года [21, 29]. Согласно результатам эпидемиологического «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» (грант VI рамочной программы Евросоюза № FP6-2006-ТТС-TU-5 Proposal 045879), распространенность ПА в российской популяции детей в возрасте 7 – 10 лет составляет 1,2%; в структуре ведущих пищевых аллергенов преобладают рыба, яблоко, яйцо, морковь, фундук, арахис [38, 171, 165].

В соответствии с современными достижениями в области молекулярной аллергологии установлено два класса пищевых аллергенов, имеющих различные механизмы развития сенсibilизации [136, 155]. Аллергены I класса представляют собой белки, IgE-связывающие эпитопы которых устойчивы к температурному воздействию и ферментному гидролизу. К данному классу относятся белки коровьего молока, куриного яйца, парвальбумин рыбы, белки растительного происхождения семейств купинов, проламинов. Сенсibilизация к аллергенам класса I развивается непосредственно в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), преимущественно, в раннем детском возрасте вследствие генетически

обусловленного нарушения оральной толерантности [103, 136]. Ключевым фактором является повышение проницаемости эпителиального барьера в сочетании с дефицитом секреторного иммуноглобулина А (IgA) [175, 108, 173]. Пищевые аллергены взаимодействуют с дендритными клетками с последующей презентацией антигена в ассоциации с молекулами II класса главного комплекса гистосовместимости. Данный комплекс при взаимодействии с наивными Т-клетками приводит к дифференцировке последних в Т-хелперы 2 типа (Th2), секреции интерлейкинов (IL) 4 и 13 типов и индукции синтеза специфического IgE [81].

Аллергены класса II представлены термолабильными белками, IgE-связывающие эпитопы которых легко разрушаются при нагревании и воздействии ферментов. К аллергенам данной группы относятся пищевые белки растительного происхождения: белки защиты (pathogenesis-related proteins, семейство PR-белков), профилины и др., имеющие молекулярное сходство с аллергенами пыльцы растений. Сенсibilизация к аллергенам класса II формируется по механизму перекрестной реактивности с пыльцевыми аллергенами у детей старшего возраста и взрослых [50, 136, 155]. Наиболее значимыми являются белки группы PR-10, которые по своей аминокислотной последовательности и пространственной структуре являются гомологами аллергена березы Bet v1 [50, 139]

Получены убедительные данные о том, что риск развития сенсibilизации зависит не только от генетической предрасположенности, но и от многочисленных внешнесредовых факторов [83, 133]. Согласно основным положениям «гигиенической гипотезы», микробное и антигенное окружение в онтогенезе человека, а, следовательно, и направленность иммунного ответа, формируются под влиянием комплекса социально-экономических, экологических, диетических факторов [160, 181, 87]. По данным ряда эпидемиологических и экспериментальных исследований, глистные инвазии, наряду с вирусными и бактериальными инфекциями, принимают участие в регуляции активности воспаления при аллергической патологии, что, вероятно, является результатом

сформировавшегося механизма защиты гельминта от иммунной системы хозяина [157, 140, 89]. Указанные эффекты установлены, прежде всего, для гельминтов класса трематод – возбудителей шистосомоза, описторхоза [157].

Так, в предшествующих исследованиях показано, что при БА, протекающей на фоне хронической описторхозной инвазии, отмечается меньшая степень гиперреактивности дыхательных путей в сравнении с неинвазированными детьми, страдающими астмой [12]. Также установлено, что хроническая инвазия *Opisthorchis felinus* сопряжена с инициацией супрессии IL-4-зависимых механизмов воспаления за счет изменения цитокинового профиля (увеличения продукции IL-10, TGF-β) [8, 37]. При аллергических заболеваниях, сочетанных с описторхозом, отмечен более высокий уровень Т-регуляторных клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{high}, чем при изолированной аллергопатологии. После дегельминтизации описторхоза наблюдается динамическое снижение содержания указанной субпопуляции регуляторных клеток [13].

Результаты одномоментного эпидемиологического исследования, проведенного в популяции детей эндемичного по описторхозной инвазии региона (Томская область, Западная сибирь), показали ассоциацию распространенности ПА и хронического описторхоза. Так, наиболее низкие показатели ПА регистрируются в сельских районах с высоким уровнем описторхоза, наиболее высокие – в городских и сельских районах с низким уровнем инвазии [38].

Таким образом, ряд проведенных исследований демонстрирует влияние хронической инвазии *Opisthorchis felinus* на развитие аллергических заболеваний, в частности ПА, за счет активации супрессорных механизмов. При этом механизмы формирования сенсibilизации к пищевым аллергенам на фоне паразитоза остаются малоизученными. В этой связи, представляет научный интерес исследование влияния хронической описторхозной инвазии на формирование сенсibilизации к различным классам пищевых аллергенов. Полученные в ходе исследования данные послужат основой для разработки рекомендаций по диагностике пищевой сенсibilизации в эндемичных по гельминтным инвазиям регионах, а также представят теоретическую базу для

разработки ранних превентивных мероприятий в отношении аллергических болезней у детей.

СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ

Результаты ряда проведенных экспериментальных исследований свидетельствуют о супрессивном влиянии хронической описторхозной инвазии на развитие и течение аллергических заболеваний за счет активации Т-регуляторных клеток и подавления синтеза провоспалительных цитокинов. В рамках эпидемиологического исследования установлено, что распространенность ПА у детей Томской области ассоциирована с распространенностью инвазии *Opisthorchis felineus*. Представляет актуальность раскрытие патогенетических закономерностей формирования сенсibilизации к пищевым аллергенам на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель настоящего исследования – установить закономерности развития сенсibilизации к пищевым аллергенам и особенности клинического течения пищевой аллергии в зависимости от наличия и интенсивности хронической инвазии *Opisthorchis felineus* для оптимизации диагностики пищевой сенсibilизации у детей.

ЗАДАЧИ:

1. С использованием количественного метода - полимеразной цепной реакции в режиме реального времени - оценить интенсивность и распространенность хронической инвазии *Opisthorchis felineus* у детей в г. Томске и сельских районах Томской области.
2. По результатам кожного алерготестирования, оценки содержания общего IgE и специфического IgE сыворотки крови изучить особенности формирования пищевой сенсibilизации в зависимости от наличия и интенсивности хронической инвазии *Opisthorchis felineus*.
3. На основании компонентной алергодиагностики (оценки содержания специфического IgE сыворотки крови к пищевым аллергенам классов I и II) изучить структуру пищевой сенсibilизации и связанные с ней особенности

клинического течения пищевой аллергии у детей в зависимости от наличия хронической инвазии *Opisthorchis felinus*.

4. Предложить мероприятия по оптимизации диагностики пищевой аллергии на основании анализа структуры и закономерностей развития сенсibilизации у детей, проживающих в эндемичном по инвазии *Opisthorchis felinus* регионе.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Использование количественного метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени позволило впервые получить данные об интенсивности инвазии *Opisthorchis felinus* в эндемичном регионе. Показано, что инвазия высокой интенсивности преобладает у жителей сельских районов, а инвазия низкой интенсивности - у детей, проживающих в городе.

Впервые установлено, что наличие хронической описторхозной инвазии ассоциировано со снижением вероятности развития пищевой сенсibilизации по результатам кожного алерготестирования и оценки уровня специфического IgE. Высокая интенсивность хронической описторхозной инвазии сопряжена с наименьшим риском развития пищевой сенсibilизации по результатам кожного алерготестирования и оценки уровня специфического IgE.

Впервые показано, что повышение общего IgE на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felinus* ассоциировано с высокой интенсивностью инвазии у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию.

Получены новые данные о более частом формировании пищевой толерантности к куриному яйцу у детей в возрасте 7 – 10 лет на фоне хронического описторхоза в сравнении с детьми, не имеющими инвазии.

Впервые по результатам компонентной алергодиагностики установлены различия в структуре сенсibilизации у детей в зависимости от наличия хронической описторхозной инвазии: показано, что у больных паразитозом реже формируется сенсibilизация к пищевым алергенам класса II в сравнении с неинвазированными детьми.

С использованием молекулярного алергологического анализа установлено, что диагностическим маркером высокого риска анафилаксии у детей, не имеющих

хронического описторхоза, является сенсibilизация к аллергенам: Сур с1 (рыба), Gal d2 (куриное яйцо), Ara h1(арахис), Cor a8, Cor a11 (фундук), Pru p3 (персик); у больных хроническим описторхозом - сенсibilизация к парвальбумину рыбы - Сур с1.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

В ходе исследования, выполненного с использованием молекулярного аллергологического анализа и метода количественной ПЦР-диагностики, получены важные данные о влиянии описторхозной инвазии на формирование пищевой сенсibilизации у детей. В этой связи, при планировании эпидемиологических исследований в регионах, эндемичных по инвазии *Opisthorchis felinus*, следует учитывать низкую распространенность пищевой сенсibilизации и ее ассоциацию с интенсивностью гельминтной инвазии. Для оценки прогноза клинического течения ПА у детей в регионах, эндемичных по описторхозной инвазии, следует использовать компонентную аллергодиагностику (ImmunoCAP, Phadia). По результатам компонентной аллергодиагностики наличие сенсibilизации к аллергенам класса I (Сур с1 - рыба, Gal d2 - куриное яйцо, Ara h1 - арахис, Cor a8, Cor a11 - фундук, Pru p3- персик) может быть использовано как маркер риска развития жизнеугрожающих состояний у детей, не имеющих описторхоза. Для больных хроническим описторхозом маркером тяжелых анафилактических реакций является аллерген Сур с1 – рыба.

Полученные результаты применяются в работе Областного детского центра клинической иммунологии и аллергологии (ОГБУЗ «Областная детская больница», г. Томск), детского отделения клиник ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. Материалы диссертационного исследования используются в ходе учебного процесса на кафедре факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, на кафедре патофизиологии в разделе «Иммунопатологические реакции. Аллергия» и на кафедре общей врачебной практики и поликлинической терапии ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии целью и задачами в исследовании предусмотрены три этапа работы.

Этап 1. Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности.

Выполнено одномоментное эпидемиологическое исследование в выборке детей в возрасте 7 – 10 лет, проживающих в г. Томске и Томской области. Использовали следующие методы:

- эпидемиологические;
- клинико-anamнестические: интервьюирование родителей/опекунов с использованием «Клинического вопросника ПА у детей», клиническое обследование, заполнение индивидуальной регистрационной карты;
- паразитологические: копроовоскопия;
- молекулярно-генетические методы: диагностика инвазии *Opisthorchis felineus* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (лаборатория факультета паразитологии Медицинского центра Лейденского Университета, Нидерланды, рук. – проф. М. Язданбакш).

Этап 2: Исследование влияния *Opisthorchis felineus* на формирование пищевой сенсibilизации у детей.

Выполнено одномоментное исследование «случай-контроль» в рамках эпидемиологического исследования. Использовали следующие методы:

- аллергологические: кожное прик-тестирование (КПТ) с пищевыми аллергенами и аэроаллергенами (ALK-Abelló, Испания);
- иммунологические: оценка уровня общего IgE сыворотки крови; оценка уровня специфического IgE сыворотки крови к пищевым и аэроаллергенам (ImmunoCAP, Phadia, Швеция);

Этап 3: Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной алергодиагностики.

Выполнено одномоментное исследование «случай–контроль» в рамках эпидемиологического исследования. Использовали оценку содержания

специфического IgE сыворотки крови к пищевым аллергенам класса I и II (ImmunoCAP ISAC, Phadia, Швеция).

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ:

1. Патогенетическими особенностями пищевой сенсibilизации на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felineus* является подавление продукции специфического IgE и повышение синтеза общего IgE. Высокая интенсивность хронической описторхозной инвазии ассоциирована с наименьшим риском развития пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови и результатам кожного алерготестирования. Уровень общего IgE зависит от интенсивности описторхозной инвазии у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови.
2. Риск развития пищевой сенсibilизации к белкам класса II (семейство PR-10), установленной методом компонентной алергодиагностики, снижен у детей, страдающих хроническим описторхозом. Данная закономерность подтверждается также для больных хроническим описторхозом, сенсibilизированных к Bet v1.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается выполнением работы в соответствии с протоколом международного многоцентрового «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» (грант VI рамочной программы Евросоюза), достаточным объемом выборок для клинико-эпидемиологических исследований, использованием современных и высокотехнологичных методов диагностики, а также адекватных и современных методов анализа и статистической обработки результатов.

Материалы исследования доложены и обсуждены на международном конгрессе Европейской Академии Аллергии и Клинической Иммунологии (г.

Мадрид, 2013 г.); Конгрессе педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Москва, 2013 г., 2014 г.); проблемной комиссии по педиатрии, на заседаниях кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (г. Томск, 2012 г., 2014 г.).

ПУБЛИКАЦИИ

По теме диссертации опубликованы 23 печатных работы, из них 8 полнотекстовых статей в журналах, реферируемых ВАК.

ЛИЧНОЕ УЧАСТИЕ АВТОРА

Автор лично формулировал цели и задачи, в соответствии с которыми выполнено исследование, провел анализ литературы, осуществил сбор материала для исследования, статистический анализ и интерпретацию результатов.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Работа изложена на 165 страницах машинописного текста, иллюстрирована 18 рисунками и 24 таблицами. Список источников цитируемой литературы включает 181 работу, из которых 44 отечественные и 137 зарубежных публикаций.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПИЩЕВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ И ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА МЕХАНИЗМЫ ЕЁ РАЗВИТИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Современные представления о механизмах развития пищевой сенсibilизации у детей

1.1.1. Пищевая аллергия: эпидемиологическое значение проблемы

Проблема пищевой аллергии (ПА) является актуальной в ежедневной практике врача–педиатра. Данная патология распространена у детей раннего возраста, в отдельных случаях характеризуется упорным тяжелым течением и в значительной мере сопряжена с ухудшением качества жизни [60, 29, 31, 30]. Зачастую, ПА представляет собой первое проявление «атопического марша» с последующим развитием атопического дерматита (АД), бронхиальной астмы (БА), аллергического ринита (АР) [163, 1]. При этом сенсibilизация к пищевым продуктам является фактором риска тяжелого течения БА в старшем возрасте [92, 134].

По данным зарубежных авторов, распространенность аллергических реакций к продуктам питания в различных регионах мира в детском возрасте составляет от 2 до 6% [60, 101]. При этом показатели распространенности ПА могут значительно варьировать в зависимости от региона проживания, возраста, а также способа верификации диагноза и анализируемого спектра аллергенов. Так, результаты когортного исследования в Дании свидетельствуют, что распространенность клинически подтвержденной ПА в группе детей до трех лет составила 2,3% [170]. В Великобритании аллергия к продуктам питания, верифицированная плацебо-контролируемыми провокационными тестами, отмечалась у 5,0% детей младше трех лет [143]. По данным американских исследователей ПА страдает 6% детей до 16 лет [101, 134].

Результаты ряда эпидемиологических исследований позволили сформулировать перечень наиболее распространенных триггеров ПА, так называемая, «большая восьмерка аллергенов»: коровье молоко, куриное яйцо, пшеница, арахис, орехи, соя, рыба, морепродукты (креветки, ракообразные) [101, 171].

В отечественной литературе представлены данные о том, что аллергические реакции к продуктам питания отмечаются у 48% детей с АД, среди больных поллинозом – у 45%, крапивницей – у 63%, БА – у 15% [21]. По данным различных исследований, ПА отмечается у 2 – 5% детей, причем от 60 до 94% случаев диагностируется в грудном возрасте [29, 31]. Аллергия к коровьему молоку выявляется у 1,9 – 3,2% детей раннего возраста, к куриному яйцу – у 2,6% (среди детей до 2,5 лет), к арахису – у 0,4 – 0,6% больных младше 18 лет [40].

Для анализа закономерностей развития и течения ПА является актуальным проведение эпидемиологических исследований в различных регионах в соответствии с едиными требованиями. В этой связи, в 2006 г. инициирован международный многоцентровой проект «Исследование распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе», в котором приняли участие 17 европейских стран, а также Россия, Индия, Китай. В условиях дефицита эпидемиологических данных в России данный проект явился первым масштабным эпидемиологическим исследованием, спланированным в соответствии с принципами доказательной медицины. Протокол данного проекта предусматривал единую схему эпидемиологического исследования и унифицированные критерии диагностики ПА, что является необходимым для получения сопоставимых результатов в разных регионах [171, 165]. Согласно полученным данным (n=13010, дети в возрасте 7 – 10 лет, Томская область), распространенность ПА в России составила 1,2%, что значительно ниже аналогичного показателя в других странах – участниках проекта [38]. При этом структура сенсibilизации во многом соответствовала аллергенам «большой восьмерки»: рыба, яблоко, яйцо, морковь, арахис, фундук [101, 171].

Актуальность и клиническая значимость данной проблемы в детском возрасте диктуют необходимость изучения механизмов развития сенсibilизации к пищевым продуктам, аспектов её естественного течения и особенностей формирования пищевой толерантности.

1.1.2. Современная номенклатура пищевых аллергенов

Основополагающее значение в изучении особенностей клинических проявлений и аспектов естественного течения ПА имеет исследование молекулярной структуры пищевых аллергенов, поскольку в состав продукта может входить несколько белков, способных провоцировать развитие аллергических реакций. Конформационные особенности и физико-химические свойства белковой молекулы аллергена определяют его устойчивость к воздействию термической обработки и действию протеолитических ферментов, а также механизм развития сенсibilизации. Как следствие, молекулярная специфика аллергена обуславливает интенсивность клинических проявлений и объясняет многообразие симптомов в зависимости от кулинарной обработки продукта [48].

Изучение молекулярной структуры аллергенов берет свое начало в середине XX столетия, когда осуществлялись первые попытки выделения биологических компонентов, способных провоцировать развитие аллергических реакций. В начале 60-х годов выделен и очищен первый аллерген – аллерген амброзии, затем, в начале 70-х годов, получен аллерген пыльцы райграсса, названный Rye 1 [135]. В 70-х – 80-х годах изучены белковые компоненты целого ряда аллергенов: пыльцы растений, домашней пыли, пищевых продуктов, описаны их структурные особенности и физико-химические свойства. Затем, при участии Международного объединения иммунологических сообществ и Всемирной Организации Здравоохранения в 1986 году разработана и впоследствии в 1994 году повторно утверждена международная номенклатура и классификация аллергенов, которая упорядочивала результаты многочисленных исследований в единую систему

[135]. Все изученные аллергены сгруппированы в белковые семейства в соответствии со структурными и биохимическими особенностями. Также было введено понятие «главного» аллергена, сенсibilизация к которому отмечается более, чем у 50% обследованных, и «малого» аллергена, которое подразумевают наличие аллергических реакций менее, чем у 50% пациентов [139, 135, 64].

В соответствии с утвержденной номенклатурой, аллергены обозначаются первыми тремя латинскими буквами названия рода и одной буквой вида, а также цифрой, определяющей хронологический порядок очищения аллергена (фундук: *Corylus avellana* – Cor a 1). В настоящее время в обозначении аллергенов также используются префиксы «n» (native) и «r» (recombinant), обозначающие способы получения аллергена [48, 135].

Согласно базе данных Международного объединения иммунологических сообществ, насчитывается около 130 семейств белков–аллергенов, среди которых выделяют аллергены растительного и животного происхождения [135, 64].

Аллергены растительного происхождения

Среди аллергенов растительного происхождения наибольшей клинической значимостью обладают представители таких белковых семейств как 2S-альбумины, липидо-трансферные протеины (ЛТП), купины, белки защиты (таблица 1) [64]. Белки данных семейств отличаются термостабильностью и устойчивостью к действию протеолитических ферментов, в связи с чем клинические проявления носят выраженный, системный характер: наблюдаются симптомы АД, поражения со стороны респираторного, гастроинтестинального трактов [64, 129, 155]. Сенсibilизация к аллергенам Ara h2 (арахис), Cor a9 (фундук) ассоциирована с развитием тяжелых жизнеугрожающих состояний [49, 111, 112, 63]. Среди аллергенов растительного происхождения также важную роль играют белки защиты (pathogenesis-related proteins, PR-белки). Согласно классификации PR-белков, в основу которой положены их аминокислотная последовательность или ферментная и биологическая активность, можно выделить 14 различных групп [135, 64]. Наиболее значимыми являются белки группы PR-10, которые по своей аминокислотной последовательности и

пространственной структуре являются гомологами главного аллергена березы Bet v1. Таким образом, у лиц, сенсibilизированных к пыльце березы, возможно развитие перекрестных реакций к фруктам семейства розоцветных, к некоторым овощам, орехам, арахису [139, 50].

Таблица 1

Основные семейства растительных белков [64]

Суперсемейство	Семейство	Представители белковых семейств
Купины	Вицилины	Cor a11 (лесной орех); Ara h1 (арахис); Jug r2 (грецкий орех)
	Легумины	Cor a9 (лесной орех); Ara h3/4 (арахис); Jug r4 (грецкий орех);
Проламины	2S альбумины	Ara h 2/6 (арахис)
	Липидо– трансферные белки	Cor a8 (лесной орех); Pru p3 (персик); Mal d3 (яблоко)
Белки защиты	PR–10	Bet v1 (береза) Ara h8 (арахис); Cor a1 (лесной орех); Mal d1 (яблоко); Pru p1 (персик)

Белки данной группы являются термолабильными – легко разрушаются при термической обработке, а также не устойчивы к воздействию протеаз. В этой связи, клинические проявления возникают при употреблении овощей и фруктов в сыром виде, а симптомы, как правило, носят локальный характер (оральный аллергический синдром, ринит, конъюнктивит) [139].

Аллергены животного происхождения

К аллергенам животного происхождения относятся протеины коровьего молока, куриного яйца, рыбы и морепродуктов. Наиболее клинически значимыми

аллергенами животного происхождения являются: β -лактоглобулин (Bos d5) и казеин (Bos d8) коровьего молока, овомукоид (Gal d1) и овальбумин (Gal d2) куриного яйца, а также белок парвальбумин рыб (Cup s1) и тропомиозин креветок (Pen a1) [179, 105, 67, 121]. Данные белки преимущественно термостабильны и не разрушаются под воздействием протеаз кишечника. Данные свойства определяют их устойчивость в пищеварительном тракте, в связи с чем они проникают через кишечную стенку в неизменном виде, что приводит к формированию сенсибилизации с последующим развитием системных проявлений: в виде атопического дерматита, развития бронхообструктивного синдрома (БОС), в отдельных случаях возможно развитие тяжелых жизнеугрожающих состояний, таких как анафилактический шок [101, 63, 111, 112, 121].

Компонентная аллергодиагностика

В настоящее время компонентная аллергодиагностика (определение уровня специфического IgE к отдельным аллергенным составляющим продукта) является приоритетным направлением аллергологии [178]. Так, определение профиля сенсибилизации пациента позволяет оптимизировать специфическую иммунотерапию. При установлении сенсибилизации к пищевым гомологам аллергена березы Bet v1 пациентам рекомендуется проводить специфическую иммунотерапию с данным аллергеном, что способствует уменьшению интенсивности клинических проявлений [7, 178].

С другой стороны, проведение компонентной аллергодиагностики позволяет более точно формировать у больных ПА группы риска по развитию тяжелых и жизнеугрожающих реакций. Так, сенсибилизация к Ara h2, Cor a9 ассоциирована с риском развития анафилактического шока. Использование компонентной аллергодиагностики позволит обоснованно назначать элиминационную диету и рекомендовать использование средств экстренной терапии при высоком риске развития симптомов анафилаксии [178, 52].

1.1.3. Механизмы развития пищевой сенсибилизации

В патогенезе аллергических реакций выделяют три стадии:

- иммунологическую - образование аллергенспецифичных антител;
- патохимическую - дегрануляцию тучных клеток с освобождением биологически активных веществ;
- патофизиологическую - стадию клинических проявлений [1, 29].

Иммунологическая стадия пищевой аллергии представляет собой формирование сенсибилизации к пищевым аллергенам. В соответствии с современными представлениями в области молекулярной аллергологии, выделяют два класса пищевых аллергенов, имеющих различные структуру и физико-химические свойства [136, 155]. Различия в молекулярной структуре аллергенов определяют механизм формирования сенсибилизации (иммунологическая стадия) и характер клинических проявлений (патофизиологическая стадия) [47].

Аллергенами класса I являются белки массой 10 - 70 кДа, имеющие стабильные IgE-связывающие эпитопы, устойчивые к нагреванию, воздействию кислот и пищеварительных ферментов [103, 135]. К аллергенам данной группы относят белки коровьего молока, куриного яйца, рыбы, морепродуктов, а также растительные белки семейств проламинов и купинов, присутствующие в фундуке, грецком орехе, кунжуте, горчице, подсолнечнике, сое, пшенице, арахисе [64, 135]. В процессе пищеварения IgE-связывающие эпитопы аллергенов класса I остаются интактными, проникают через кишечную стенку и инициируют первую, иммунологическую стадию пищевой аллергии – формирование сенсибилизации (рисунок 1). Данный этап протекает с участием клеток лимфоидной ткани, ассоциированной с пищеварительным трактом [103, 136]. Антигены захватываются специализированными участками фолликул-ассоциированного эпителия - М-клетками и транспортируются из просвета кишечника в прилежащую лимфоидную ткань. В лимфоидной ткани В-клетки, макрофаги, дендритные клетки захватывают макромолекулы, расщепляют их на пептидные

фрагменты и представляют их на своей поверхности в комплексе с антигенами II класса главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). Далее комплекс антигенных пептидов с молекулами II класса ГКГС связывается с рецептором на Т-клетках и таким образом активирует Т-клетку, которая дифференцируется в Th2 – типа. Активация Th2-клеток сопровождается последующей секрецией цитокинов IL-4 и IL-13, что является необходимым сигналом для индукции синтеза IgE. Образовавшиеся антитела фиксируются с помощью высокоафинных рецепторов на клетках мишенях 1 порядка (тучные клетки и базофилы) и 2 порядка (макрофаги, моноциты, эозинофилы) в шоковых органах: респираторном, гастроинтестинальном тракте, коже [1, 24, 29, 81].

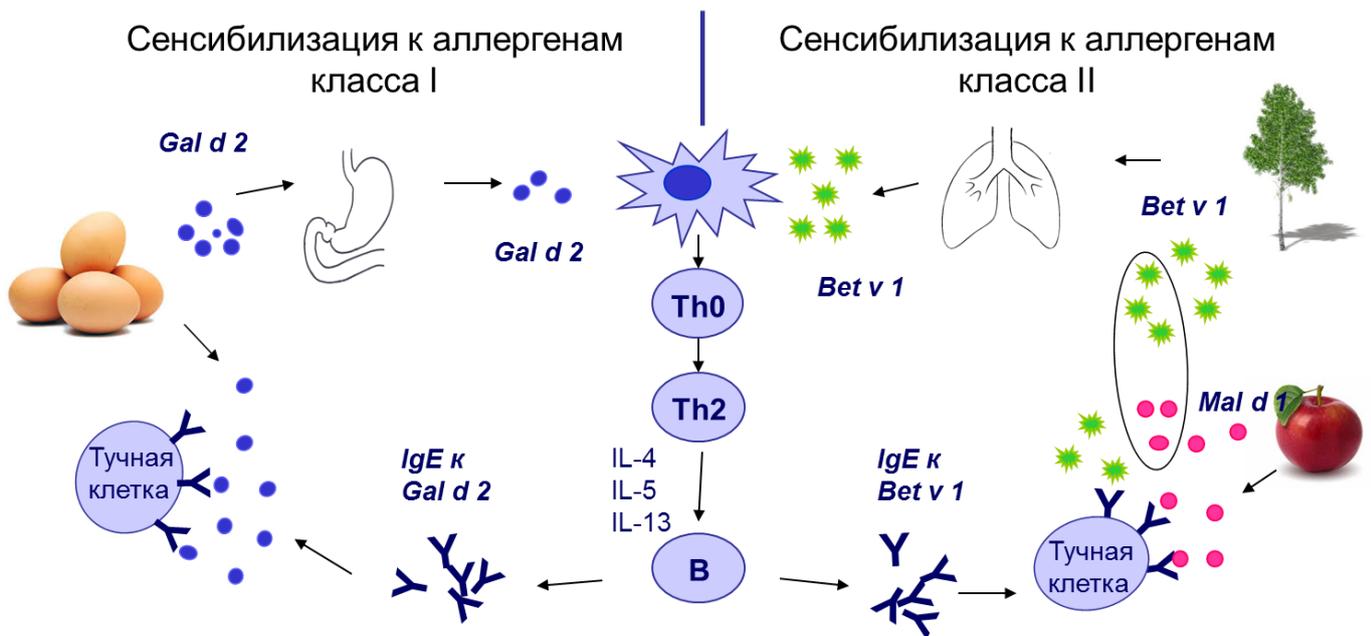


Рисунок 1. Развитие сенсibilизации к пищевым аллергенам классов I и II (по материалам Burks A.W., Hofmann A., Han Y. [103, 109, 110])

Развитие следующей - патохимической - стадии аллергического воспаления происходит, когда в организм поступает тот же антиген и связывается со специфическими IgE, фиксированными на клетках-мишенях, что приводит к их дегрануляции и высвобождению различных медиаторов воспаления: гистамина,

серотонина, анафилоксина, лейкотриенов, различных факторов хемотаксиса [1, 29, 81].

Патофизиологическая стадия представляет собой многообразие клинических проявлений, которые связаны с действием продуктов дегрануляции клеток-мишеней. Для сенсibilизации к пищевым аллергенам класса I характерно развитие генерализованных реакций: под влиянием медиаторов воспаления повышается проницаемость мелких сосудов, что приводит к развитию отека, развивается бронхоспазм и спазм гладких мышц кишечника, может происходить падение артериального давления [129, 103, 136]. Все эти эффекты клинически проявляются в виде приступа бронхиальной астмы, ринита, конъюнктивита, крапивницы, кожного зуда, диареи. Возможны тяжелые системные реакции по типу анафилактического шока и отека Квинке [63, 101, 63].

Необходимо отметить, что сенсibilизация к аллергенам класса I развивается в пищеварительном тракте в раннем возрасте [103, 136]. Эффективным методом лечения данного типа аллергии является строгая элиминационная диета. В дальнейшем, у большинства пациентов с ПА к коровьему молоку, куриному яйцу к школьному возрасту формируется пищевая толерантность к указанным продуктам, в то же время, при аллергии к рыбе, арахису, морепродуктам развитие толерантности не свойственно [105, 179, 49, 121].

Сенсibilизация к пищевым аллергенам класса II в связи с особенностями их молекулярного строения формируется по иному механизму (рисунок 1). По своим физико-химическим свойствам белки данной группы являются термолабильными и, преимущественно, неустойчивыми к воздействию кислот и протеолитических ферментов [135, 136]. По этой причине сенсibilизация к аллергенам класса II в гастроинтестинальном тракте не развивается: IgE-связывающие эпитопы легко разрушаются в ходе кулинарной обработки и в процессе пищеварения, в связи с чем не происходит контакта аллергенов с лимфатической системой кишечника. Сенсibilизация к аллергенам класса II развивается опосредованно, на фоне предшествующей сенсibilизации к

ингаляционным пыльцевым аллергенам по механизму перекрестного реагирования [50, 136, 34]. Феномен перекрестной реактивности заключается в сходстве аминокислотной последовательности и трехмерной структуры пыльцевых и пищевых белковых молекул и, как следствие, в наличии гомологичных IgE-связывающих эпитопов. Развитие перекрестных реакций считается возможным при идентичности более 70% аминокислотной последовательности. В случае молекулярного сходства менее 50% перекрестное реагирование маловероятно [50, 136]. В зарубежной литературе данный класс реакций обозначается, как пыльцевой/пищевой аллергический синдром и выражается в последующем развитии перекрестных пищевых реакций к фруктам, овощам, орехам, арахису [109].

Изначально формируется сенсibilизация к пыльцевым аллергенам (березе, лещине, полыни). При употреблении пищевых продуктов, имеющих молекулярное сходство с пыльцевыми аллергенами, происходит взаимодействие пищевого аллергена со специфическими IgE к пыльце, фиксированными на тучных клетках слизистой верхних отделов респираторного тракта: ротовой полости, носоглотки. Патофизиологическая стадия характеризуется развитием локальных клинических проявлений в виде орального аллергического синдрома, ринита, конъюнктивита [109, 122].

Сенсibilизация к пищевым аллергенам II класса формируется, главным образом, у взрослых и детей старшего возраста, как правило, не исчезает с течением времени. Характерно, что при наличии данного типа сенсibilизации в качестве эффективного терапевтического подхода рекомендуется употребление причиннозначимых пищевых продуктов исключительно после термической обработки [109, 122, 136].

Аллергенами, которые являются основой для формирования перекрестной сенсibilизации и развития ПА II класса, могут выступать различные пыльцевые антигены деревьев, сорных трав и злаковых растений [64, 50]. Структура ведущих причиннозначимых аллергенов может различаться в зависимости от региона проживания. Так, в ряде зарубежных исследований установлено, что в странах

центральной и северной Европы инициирующей сенсibilизацией для развития пыльцевого/пищевого аллергического синдрома наиболее часто является аллергия к пыльце березы [78, 39]. В южных регионах и странах Средиземноморья первично–сенсibilизирующим аллергеном, по мнению некоторых авторов, может выступать пыльца оливковых деревьев, платана, а также сорных трав – полыни и постенницы [50].

В средней полосе России наиболее частой причиной поллинозов является сенсibilизация к пыльце березы и родственных ей растений – ольхи, лещины [34]. Результаты исследования, проведенного в Томской области, свидетельствуют о преобладающей роли аллергена березы в структуре пыльцевых аллергенов у школьников. При этом установлено, что высокая распространенность специфической сенсibilизации к аллергену пыльцы березы является одним из наиболее значимых факторов, влияющих на структуру сенсibilизации к пищевым аллергенам у детей, проживающих в Томской области [39]. Установлена ассоциация сенсibilизации к аллергену пыльцы березы и аллергенам фундука, арахиса, яблока и моркови. Очевидно, аллергия к пыльце березы является основной причиной формирования перекрестной сенсibilизации к гомологичным пищевым аллергенам растительного происхождения и определяет структуру ПА у детей в Томской области [39].

Для ПА II класса характерна положительная клиническая динамика после проведения специфической иммунотерапии (АСИТ) пыльцевыми аллергенами. Так, результаты отечественных и зарубежных исследований продемонстрировали, что у 50 – 80% больных поллинозом отмечалось уменьшение выраженности орального аллергического синдрома после проведения АСИТ, что подтверждалось также результатами кожных алергопроб [34, 122].

1.1.4. Факторы местной иммунной защиты кишечника и механизмы формирования пищевой толерантности

В развитии пищевой аллергии важную роль играют иммунные и

неиммунные системы ЖКТ [175, 90, 61]. Неиммунные, или механические, барьерные механизмы включают желудочную секрецию соляной кислоты, протеолитические ферменты, а также продукцию и секрецию слизи. Сочетание этих факторов приводит к деструкции антигенных эпитопов, делает невозможным преодоление аллергенами интестинального эпителия и предупреждает контакт молекул с антиген–представляющими клетками [81, 61, 175].

Местная иммунная система кишечника обеспечивает естественное формирование оральной толерантности к пищевым аллергенам. Под оральной толерантностью понимают физиологическое состояние иммунологической неактивности к антигену, с которым организм ранее контактировал при энтеральном пути его введения [68, 24]. Индукция оральной толерантности возникает после первого контакта антигена с лимфоидной тканью кишечника [90, 63]. Хотя пищевые антигены расщепляются к моменту попадания в тонкую кишку, в ряде исследований продемонстрировано, что расщепление происходит только частично, и некоторое количество антигенов абсорбируется в неизмененном виде: известно, что около 2% антигенов проникает через кишечный барьер в интактной форме и обнаруживается в сыворотке крови [61, 90].

Выделяют два варианта формирования оральной толерантности в зависимости от дозы антигена. Так, повторные оральные введения низких доз антигена индуцируют регуляторные Т-клетки к продукции трансформирующего ростового фактора β (TGF- β) и IL-10 (рисунок 2). Высокие дозы антигена вызывают клональную делецию и/или анергию на фоне отсутствия Т-клеточной пролиферации, что приводит к снижению продукции IL-2 и экспрессии рецепторов к нему [24, 54]. Под клональной делецией подразумевается удаление антигенспецифических Т-клеток посредством Fas-опосредованного апоптоза. Эти механизмы регулируются с участием IL-12 и интерферона γ (IFN- γ) [131]. Анергия возникает при активации рецепторов Т-клеток в отсутствие ко-стимуляции [54]. Установлено, что для антигенспецифической Т-клеточной активации требуется участие соответствующих молекул-костимуляторов (CD28 на Т-клетках; CD80 и CD86 на антигенпрезентирующих клетках). Поскольку

кишечные эпителиальные клетки в нормальном состоянии не экспрессируют костимулирующие молекулы, отсутствие последних на поверхности эпителиальных клеток может отчасти объяснять отсутствие ответа Т-клеток (т.е. анергию или толерантность) на пищевые вещества в эпителиальном слое [24, 54].

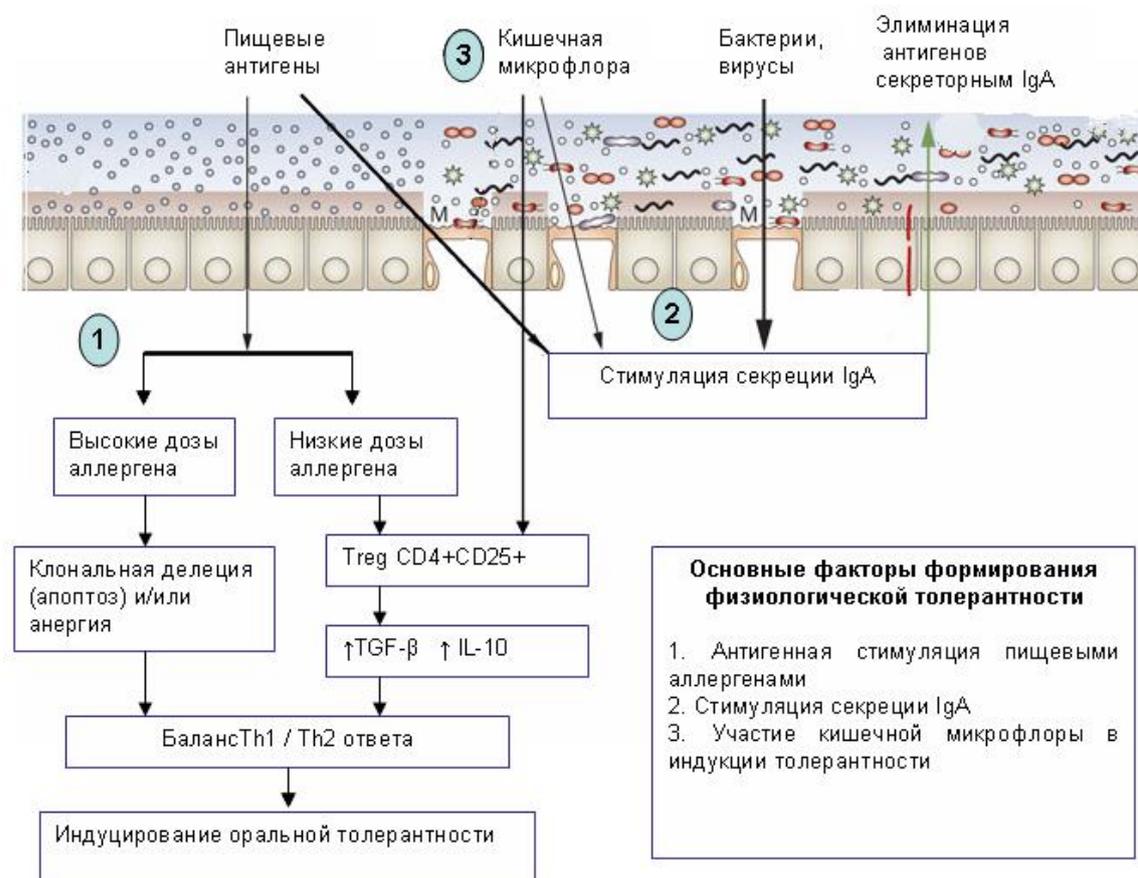


Рисунок 2. Факторы развития оральной толерантности [61]

К факторам, влияющим на развитие оральной толерантности, относятся генетическая предрасположенность пациента и характер вскармливания в грудном возрасте [68]. Начало и длительность иммунного ответа зависят также от возраста первой экспозиции антигена. Так, установлено, что пренатальная экспозиция β-лактоглобулина у мышей способствует индукции оральной толерантности к данному антигену, тогда как задержка в экспонировании β-лактоглобулина удлиняет период, необходимый для развития толерантности [138]. Вероятно, более ранний контакт с антигеном влияет на развитие толерантности путем изменения секреции регуляторных цитокинов [90, 119]. В

этой связи не обоснована эффективность профилактики аллергии к белкам коровьего молока, куриного яйца, арахиса путем элиминации из рациона матери продуктов, содержащих эти аллергены в третьем триместре беременности [101, 126, 88].

Интестинальная микрофлора также может индуцировать и поддерживать оральную толерантность [22]. Так, установлена способность некоторых штаммов лактобактерий индуцировать продукцию IL-10 и TGF- β CD4⁺ лимфоцитам [90, 172, 65]. Существуют данные экспериментальных исследований, указывающих, что в отличие от нормальных животных, мыши с санированным кишечником не способны к развитию оральной толерантности [99]. В экспериментальных моделях IgE-зависимый ответ у животных может корригироваться заселением флоры в неонатальный период, в то время как при попытке заселения кишечной микрофлорой в более поздние сроки этой коррекции не происходит [95]. Нарушение колонизации кишечника в неонатальный период может быть причиной активации Th-2 клеток и препятствием формированию оральной толерантности [90, 172].

Также существенную роль в поддержании местной иммунной защиты слизистой кишечника играет синтез секреторного IgA. Дефицит данного иммуноглобулина является фактором риска развития аллергических и аутоиммунных заболеваний кишечника [175, 108, 173]. Секреторный IgA наряду с другими, в том числе и неспецифичными факторами защищает эпителий слизистой кишечника, предотвращая адгезию к нему микробов, нейтрализуют токсины и вирусы [175, 130]. Образование данного иммуноглобулина стимулируется проникновением пищевых аллергенов через слизистую кишечника с помощью M-клеток и взаимодействием с антигенпрезентирующими клетками, что приводит к индукции синтеза В-лимфоцитами IgA и угнетению образования IgG, IgM, IgE [97].

ПА развивается вследствие отсутствия формирования толерантности или её утраты, что может быть ассоциировано с генетической предрасположенностью или воздействием внешних факторов [90, 130]. Формирование сенсibilизации

предполагает контакт аллергенов с клетками иммунной системы кишечника (в Пейеровых бляшках, лимфатических узлах) [61, 68]. Любое повреждение иммунного или неиммунного барьера может нарушить процессинг антигенов и привести к повышению выработки антител. У лиц с генетической предрасположенностью к аллергии это приводит к гиперпродукции IgE с последующим развитием реакций гиперчувствительности немедленного типа при повторном контакте с пищевыми аллергенами [103, 81].

Факторами, предрасполагающими к развитию ПА в детском возрасте, являются незрелость гастроинтестинального тракта, которая подразумевает снижение активности кислотного и ферментного гидролиза в сочетании с высокой проницаемостью кишечной стенки [61, 24, 130]. При этом отмечается функциональная незрелость иммунной системы, которая заключается в сниженной секреции IgA в слизистой кишечника и повышенной активности Т-клеток в отношении пищевых аллергенов [108, 130]. Установлено, что у детей с дефицитом секреторного IgA ПА развивается чаще [97]. По мере взросления ребенка происходит созревание ферментных систем кишечника и совершенствование факторов местной иммунной защиты, в связи с чем отмечается формирование толерантности к пищевым аллергенам [130, 35].

Таким образом, развитие пищевой сенсibilизации – сложный многоэтапный процесс. Существует два основных механизма формирования пищевой сенсibilизации, каждый из которых реализуется в разные возрастные периоды. Так, сенсibilизация к аллергенам класса I развивается в гастроинтестинальном тракте, в раннем детском возрасте по причине нарушения механизма формирования оральной толерантности. Сенсibilизация к аллергенам класса II возникает у детей школьного возраста на фоне пыльцевой сенсibilизации. В значительной мере процесс формирования пищевой сенсibilизации, независимо от механизма её развития, обусловлен наследственной предрасположенностью, но, в то же время, подвержен влиянию целого ряда внешнесредовых факторов: диетических, климато-географических,

социально-экономических. В этой связи, значительный интерес представляет изучение особенностей формирования пищевой сенсibilизации с позиции влияния различных экзогенных факторов.

1.2. Влияние гельминтной инвазии на клиническое течение аллергических заболеваний и развитие сенсibilизации к пищевым аллергенам

1.2.1. Распространенность гельминтозов и аллергических заболеваний: результаты эпидемиологических исследований

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о значительно более высокой распространенности аллергических заболеваний в индустриальном мире по сравнению с развивающимися странами [11, 83, 133, 62]. В частности, такие заболевания как БА, АД достоверно реже регистрируются в Эфиопии, Гамбии, Эквадоре, Венесуэле по сравнению со странами Европы и Северной Америки [83, 51, 180]. Также, в ряде исследований отмечается превалирование аллергических заболеваний у городских жителей по сравнению с сельской популяцией [77, 77, 56].

Полученные данные легли в основу «гигиенической гипотезы», согласно которой экспозиция аллергенов, вирусные, бактериальные инфекции, а также гельминтные инвазии оказывают влияние на риск развития аллергических болезней [160, 181]. Так, рецидивирующие инфекции приводят к повышению продукции цитокинов Th1 профиля лимфоцитов, что способствует предупреждению развития аллергенной сенсibilизации у детей [181]. По данным ряда эпидемиологических исследований, отмечается меньший риск развития аллергопатологии у детей с частыми респираторными заболеваниями в раннем детском возрасте, а также у лиц, выросших в многодетных семьях [160, 89]. Глистные инвазии, наряду с вирусными и бактериальными инфекциями, оказывают модифицирующее влияние на формирование иммунного ответа [157, 87, 140]. По этой причине, значительный исследовательский интерес вызывает

изучение влияния гельминтозов на развитие аллергических заболеваний. Анализ накопленных данных свидетельствует о сложном и противоречивом характере подобного рода взаимоотношений. Так, результаты эпидемиологических исследований демонстрируют неоднозначное влияние паразитарных инвазий на распространенность аллергических заболеваний. Отмечается, что хроническая инвазия *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris suis* ассоциирована с низким риском развития аллергических заболеваний в Эквадоре, Эфиопии [51, 117, 177]. Напротив, инвазия *Toxocara canis* сопряжена с более высоким риском развития астмы [74]. Исследование, проведенное в выборке кубинских школьников (n=1320), свидетельствует о протективном влиянии *Ascaris lumbricoides* в отношении атопического дерматита. В рамках этого исследования установлено, что инвазия *Enterobius vermicularis*, напротив, ассоциирована с высоким риском развития атопического дерматита и аллергического риноконъюнктивита, а заражение *Trichuris trichiura* не оказывает значимого влияния на развитие и течение указанных аллергических заболеваний [55]. В ходе клинического исследования показано, что *Anisakis simplex* может приводить ухудшению течения аллергических заболеваний [85]. Результаты исследований, проведенных в Коста-Рике, свидетельствуют, о том, что инвазия *Ascaris lumbricoides* у детей ассоциирована с повышением реактивности бронхов, а также с высоким риском развития БА. Кроме того, у пациентов с аскаридозом отмечаются достоверно более высокие показатели кожной реактивности к аллергену домашней пыли [153, 118]. Регулирующее влияние в отношении атопической патологии может оказывать степень гельминтной инвазии. Согласно результатам исследования в Зимбабве, высокая интенсивность инвазии *Schistosoma heamatobium* негативно коррелирует с вероятностью аллергических заболеваний, а инвазия средней интенсивности такого влияния не оказывает [57].

Таким образом, результаты исследований, свидетельствующие о протективном влиянии гельминтной инвазии в отношении атопической патологии, представляют значительный научный интерес и диктуют необходимость дальнейшего изучения данной проблемы.

1.2.2. Исследование аспектов влияния гельминтной инвазии на развитие сенсibilизации

Большинство кишечных паразитов в острый период инвазии индуцируют развитие Th-2 иммунного ответа, сопряженного с продукцией цитокинов IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, повышением уровня IgE, активацией эозинофилов [87, 144]. Данная реакция иммунной системы носит защитный характер и направлена на элиминацию гельминтов из организма хозяина. Так, индуцированное гельминтами повышенное образование IL-4 и IL-13, приводит к стимуляции продукции кишечной слизи и усилению сокращения гладкой мускулатуры кишечника [144, 96]. В тоже время, результаты значительного числа эпидемиологических исследований, указывают на сопряженность гельминтной инвазии со снижением риска развития аллергических заболеваний [76, 117, 55, 140].

Ряд исследований свидетельствует о повышении продукции поликлональных IgE на фоне гельминтной инвазии. Иммуноглобулины данного типа блокируют рецепторы тучных клеток и препятствуют связыванию специфических антител, в результате чего ингибируется дегрануляция тучных клеток, и реакции гиперчувствительности немедленного типа в отношении IgE-специфичных антител не происходит [147, 140]. В нескольких исследованиях показано, что протективный эффект гельминтных инвазий ассоциирован с высвобождением большого количества поликлональных IgE из плазматических клеток [124, 100].

Ряд авторов объясняет снижение риска развития аллергических заболеваний у инвазированных лиц способностью гельминтов оказывать супрессивное воздействие на течение Th-2 иммунного ответа, что представляет собой защитный механизм, необходимый для длительного персистирования в организме хозяина [87]. Модулирующий эффект в отношении супрессии аллергического воспаления достигается за счет пролиферации T-регуляторных клеток, которые, в свою очередь, подавляют созревание и активацию эффекторных клеток [176].

Результаты современных исследований предполагают ключевую роль дендритных клеток, которые потенцируют дифференциацию наивных Т-клеток в Т-регуляторные клетки с последующей активацией синтеза IL-10 и TGF- β (рисунок 3) [127]. Цитокин IL-10 вовлечен в широкий спектр иммуносупрессивных механизмов: повышение его уровня приводит к подавлению выработки антигенспецифичных IgE, снижению продукции провоспалительных цитокинов, высвобождаемых из тучных клеток, базофилов, эозинофилов [76, 104]. Примечательным является также тот факт, что повышенный уровень IL-10 отмечается у пациентов, получающих аллергенспецифическую иммунотерапию [123].

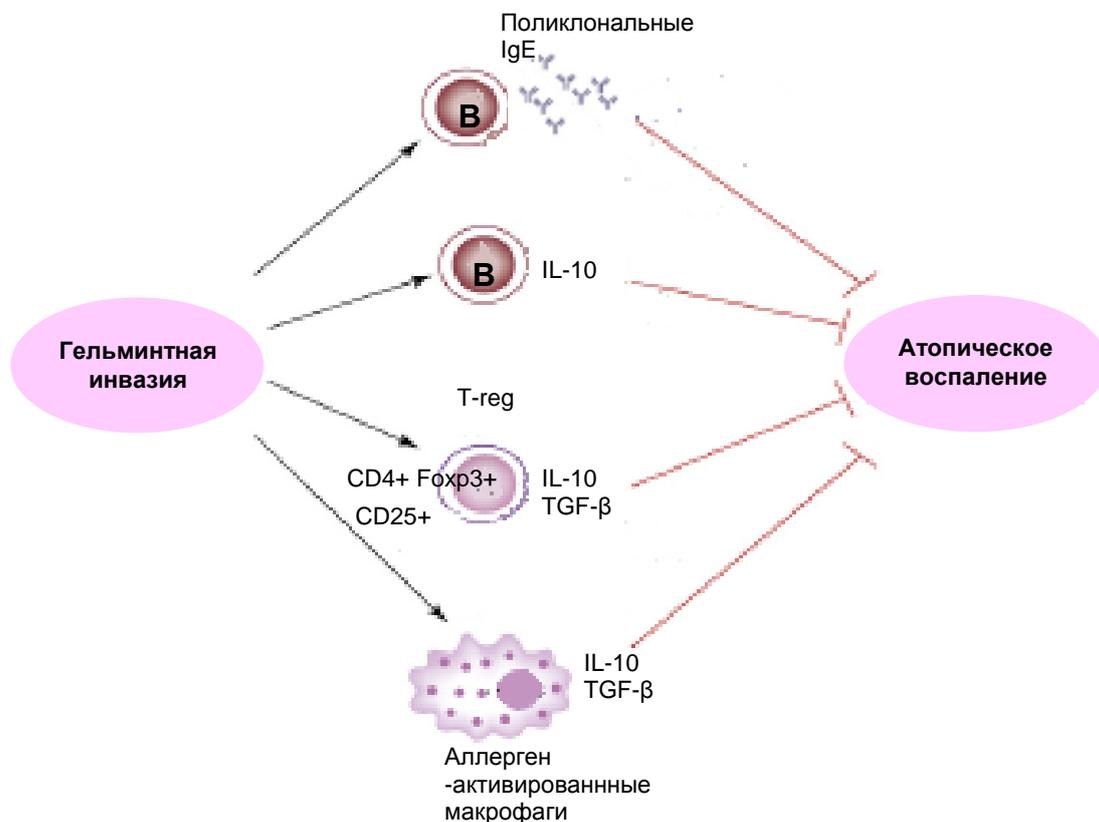


Рисунок 3. Схема иммуносупрессивного действия гельминтной инвазии при развитии atopического воспаления [53, 73].

Однако, действие IL-10 не ограничивается только лишь супрессивным воздействием на Th-2-иммунный ответ: при участии данного цитокина

происходит созревание дендритных клеток, ингибируется экспрессия главного комплекса гистосовместимости II класса и образование костимулирующих молекул [120]. Клетками, вырабатывающими IL-10, считаются T-регуляторные клетки. Однако, ряд исследований свидетельствует о том, что удаление указанной субпопуляции лимфоцитов не приводит к снижению уровня IL-10 [104]. Вероятно, T-регуляторные клетки не являются единственным источником продукции данного интерлейкина: некоторые исследования свидетельствуют о способности макрофагов, а также В-клеток вырабатывать IL-10 [152, 66].

Результаты экспериментальных исследований на мышах свидетельствуют о протективном действии инвазии *Heligmosomoides polygyrus* (класс нематод) в отношении развития аллергических реакций к арахису [53]. Иммунологический механизм, предположительно, заключается в супрессии образования IL-4 и IL-13 – главных факторов, определяющих гиперпродукцию IgE. Авторы полагают, что опосредуемая кишечными гельминтами супрессия выработки IgE, ассоциирована со снижением риска развития анафилактических реакций при употреблении мышами аллергена арахиса. В данной экспериментальной модели также подтверждается иммуносупрессивное влияние цитокина IL-10. Так, отмечается, что при нейтрализации IL-10 происходит своего рода «отмена» протективного действия гельминтов в отношении развития аллергических симптомов, что проявляется в виде усиления выработки специфических IgE и развития анафилактических реакций [53].

Данные ряда экспериментальных исследований свидетельствуют о молекулярном сходстве некоторых аллергенов и паразитарных антигенов. Так, например, сократительный белок гладкой мускулатуры беспозвоночных - тропомиозин является частью антигенной структуры ряда гельминтов, в частности, *Ascaris lumbricoides*. Указанный протеин определяет сенсibilизацию к клещам домашней пыли, а также вызывает развитие пищевой аллергии при употреблении морепродуктов: креветок, омаров, лобстеров [75]. Ряд антигенов в структуре *Brugia malayi*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni* относится к семейству профилинов, а некоторые белки *Schistosoma mansoni* соответствуют по

молекулярной характеристике протеинам семейства купинов [86, 91]. Сходство белков на уровне аминокислотной последовательности, так называемая молекулярная мимикрия, может провоцировать развитие перекрестных реакций.

В этой связи представляется интересным мнение некоторых ученых, о том, что изначально IgE-зависимый ответ предназначался только для регуляции взаимоотношений хозяина и паразита. Иными словами, Th-2 тип иммунного ответа эволюционно сформировался как реакция на внедрение кишечных гельминтов. Феномен аллергической реакции сформировался значительно позже, исключительно благодаря молекулярному сходству паразитарных антигенов и различных антигенов, поступающих в организм извне (пыли, пищевых продуктов, пыльцы), как бы позаимствовав механизм IgE-опосредуемой реакции [91].

Значительный интерес вызывает изучение влияния дегельминтизации на динамику маркеров атопического воспаления после дегельминтизации. Так, в группе школьников в Габоне (n=341) установлено, что в течение 30 мес. после лечения *Ascaris lumbricoides* и *Trichuris trichiura* происходит достоверное увеличение кожной реактивности к аллергену клещей домашней пыли [125]. Сходные результаты получены в аналогичном исследовании в Венесуэле [80]. В то же время, в ходе проспективного исследования в Эквадоре (n=1632) показано, что у школьников, получавших регулярную (каждые 2 мес.) антигельминтную терапию альбендазолом в течение года, изменения кожной реактивности отмечено не было [114]. Подобные различия в некоторой степени могут быть связаны с недостаточной продолжительностью наблюдения. Кроме того, необходимо принимать во внимание этиологию гельминтной инвазии: возможно, при аскаридозе или трихоцефалезе отмечается более выраженное иммуносупрессивное действие, чем при энтеробиозе. При этом, надо учитывать, что время, необходимое для отмены иммуномодулирующего эффекта, также может различаться в зависимости вида возбудителя [72].

Иммуносупрессивный эффект паразитоза, а также устойчивость его после дегельминтизации во многом зависит от возрастного периода, в котором произошла инвазия кишечными гельминтами (рисунок 4).

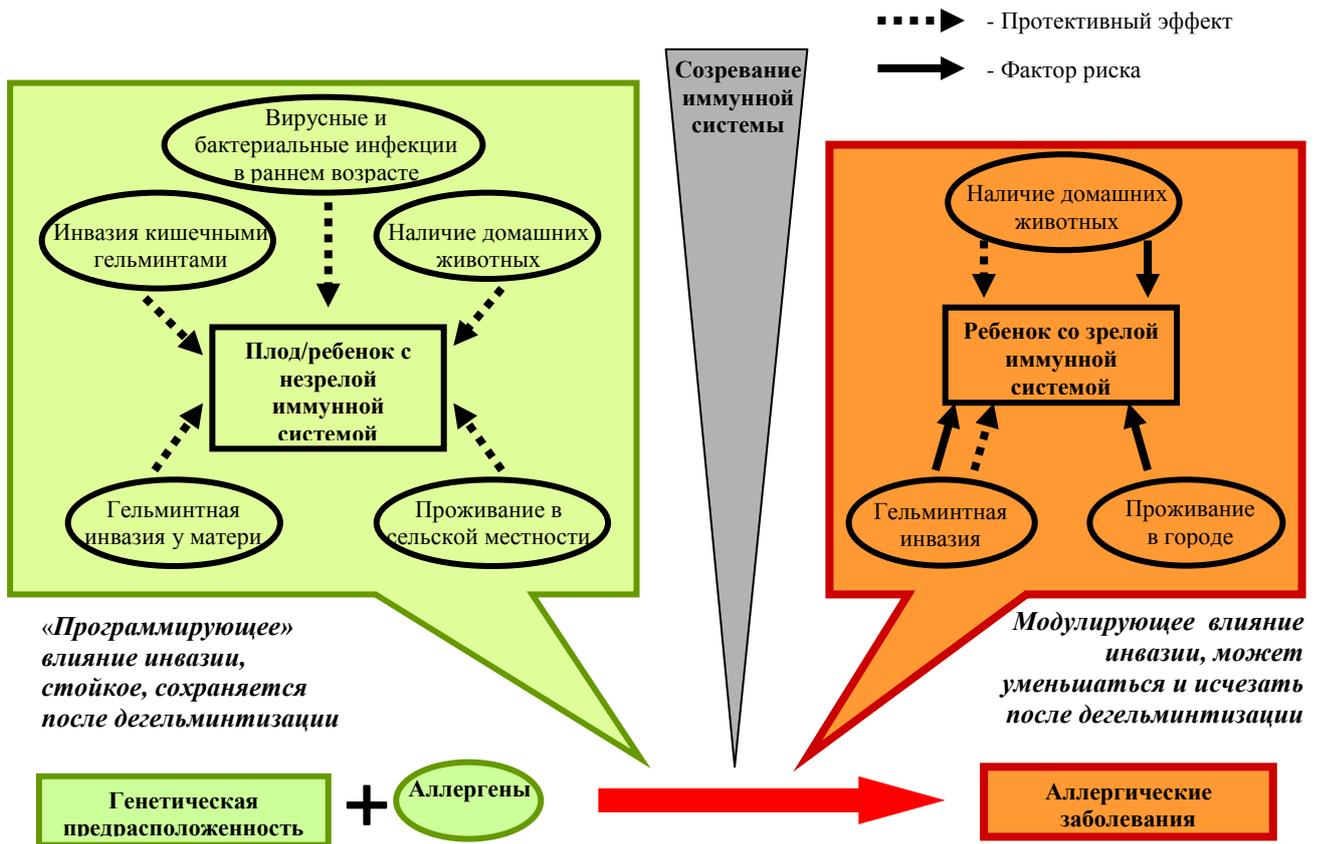


Рисунок 4. Влияние внешнесредовых факторов на формирование иммунологической реактивности [72].

Так, в случае возникновения паразитоза в раннем детском возрасте, в период активного формирования иммунной системы, паразитарная инвазия оказывает «программирующее» влияние, связанное со стойкой супрессией Th2–зависимого иммунного ответа, которое сохраняется после дегельминтизации [72, 114, 105].

Гельминтная инвазия, возникшая в более позднем возрасте, оказывает «модулирующее» действие, при этом супрессивный эффект в отношении Th2–зависимого иммунного ответа, может уменьшаться вследствие лечения паразитоза, что может быть причиной усиления кожной реактивности и ухудшения клинического течения заболевания [124, 80, 72].

Изучение механизмов, посредством которых реализуется влияние гельминтов на иммунный ответ, является важным в отношении создания новых методов лечения аллергических заболеваний [137]. В настоящее время активно

разрабатываются и исследуются в экспериментальных и клинических моделях терапевтические подходы с использованием антигенов различных кишечных паразитов, что является перспективным для клинической практики [84, 137].

1.2.3. Эпидемиологические и молекулярные взаимоотношения хронической инвазии *Opisthorchis felineus* и аллергических заболеваний

Описторхоз – пероральный биогельминтоз, поражающий гепатобилиарную систему и поджелудочную железу, отличающийся длительным течением с периодическими обострениями. Описторхоз может выступать причиной возникновения первичного рака печени и поджелудочной железы [16, 43]. Возбудителями описторхоза являются два вида трематод семейства *Opisthorchidae*: *Opisthorchis felineus* и *Opisthorchis viverrini*. В России данное заболевание связано с инвазией *Opisthorchis felineus* и распространено преимущественно на территориях бассейнов рек Оби, Иртыша, Волги, Камы, Днепра. Имеются данные о наличии очагов низкой интенсивности на притоках рек Енисея, в бассейне рек Урала, Северной Двины [16]. В странах же Восточно-Азиатского региона (КНР, Таиланд, Южная Корея, Лаос, Вьетнам и др.) более 10 млн. человек инвазировано *Opisthorchis viverrini* [47].

Opisthorchis felineus (синонимы: двуустка кошачья, двуустка сибирская) имеет плоское тело длиной 4 – 13 мм и шириной 1 – 3,5 мм. Данный вид гельминта паразитирует во внутривнутрипеченочных желчных протоках (половозрелая форма), в желчном пузыре, протоках поджелудочной железы человека, кошки, собаки и некоторых других плотоядных животных. Источниками заражения являются инвазированный описторхисом человек, домашние и дикие животные. Выделяемые ими яйца гельминтов попадают в пресные водоёмы, а затем заглатываются моллюсками *Bithynia leachi* – промежуточным хозяином *Opisthorchis felineus*, в которых происходит развитие и размножение личинок описторхисов (церкарий), после чего они попадают в воду. Личинки описторхисов (церкарии) активно проникают в подкожную клетчатку и мышцы

карповых рыб (дополнительных хозяев), где созревают до метацеркариев. Заражение человека и млекопитающих животных происходит при употреблении в пищу сырой и/или недостаточно термически обработанной, либо слабо просоленной рыбы с метацеркариями гельминта [6, 5].

В Европейской части России гельминтом *Opisthorchis felineus* инвазировано около 0,02–0,1% взрослого населения [5]. В Западно-Сибирском регионе распространенность описторхоза многократно выше. Так, в Обь-Иртышском бассейне находится самый крупный очаг описторхоза в мире (70% всех случаев описторхоза на территории Российской Федерации), который был открыт в 1929 г. 70-й гельминтологической экспедицией во главе с К.И. Скрябиным [6]. Традиционно жители этих районов используют речную рыбу в качестве основного продукта питания: 70 – 80% населения занимаются любительским ловом рыбы. Следует отметить, что зараженность личинками *Opisthorchis felineus* рыбы в некоторых водоемах и реках Обь-Иртышского бассейна по данным исследований составляет для язя – до 100%, чебака и леща – 70%, линя – 45% [4].

Проведенное в 1979 – 1982 г.г. сотрудниками СибГМУ изучение пораженности описторхозом детей показало, что данная инвазия регистрируется с широким диапазоном колебаний в зависимости от расположения районов по отношению к основному водному бассейну – реки Оби [2, 6]. Наиболее высокие показатели регистрировались в административных районах, расположенных непосредственно по течению реки Оби: Каргасокский, Колпашевский, Кривошеинский, Молчановский, Парабельский районы, где пораженность детского населения достигла $63,97 \pm 0,82$ на 1000 детей. На территориях, расположенных на крупных притоках Оби (Асиновский, Зырянский, Первомайский, Тегульдетский, Шегарский районы) данный показатель составил в среднем $32,02 \pm 0,41$, а в районах, отдаленных от поймы Оби (Бакчарский, Верхнекетский, Кожевниковский, Томский, Чаинский) – $12,52 \pm 0,41$ на 1000 детей [2].

Также установлено, что инвазия *Opisthorchis felineus* возможна с первых лет жизни и с возрастом частота заражения увеличивается. Максимум инвазирования

наблюдается у детей 7 – 14 лет. Так, средний уровень пораженности детей до 3-х лет составляет $8,88 \pm 0,30$, а у детей 7 – 14 лет – $61,61 \pm 0,67$ на 1000 детей, при этом в отдельных регионах данный показатель достигает $102,17 \pm 1,70$ на 1000 детей [2]. Таким образом, проведенное исследование позволило стратифицировать районы Томской области в зависимости от распространенности описторхозной инвазии.

В настоящее время является актуальной разработка информативных методов диагностики инвазии *Opisthorchis felineus*. Исследование дуоденального содержимого является наиболее чувствительным диагностическим методом, однако, инвазивность данной процедуры ограничивает её использование при проведении эпидемиологических исследований [2]. Метод копроовоскопии значительно более прост, но характеризуется значительной частотой ложноотрицательных результатов. Существующие в настоящее время копроовоскопические методы определения интенсивности описторхозной инвазии – метод Столла, Като-Каца, седиментационные методы – также не имеют широкого применения [2, 28, 43].

В качестве альтернативы существующим диагностическим процедурам в СибГМУ, совместно с Медицинским Центром Лейденского Университета, разработан метод ПЦР диагностики гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* в образцах стула. Данный метод позволяет проводить качественную диагностику описторхозной инвазии и характеризуется высокой чувствительностью, поскольку для проведения реакции является достаточным минимальное содержание ДНК гельминта [10, 25, 23].

Так, по результатам ПЦР-диагностики описторхозной инвазии у детей 7 – 15 лет, проживающих в различных регионах Томской области, наиболее высокая распространенность описторхоза зарегистрирована в северных и северо-восточных районах: Александровский, Чаинский, Молчановский, Колпашевский, Бакчарский, Каргасокский, Тегульдетский. По данным ПЦР-диагностики, распространенность описторхозной инвазии в этих районах составила в среднем 35,14% с широким диапазоном колебаний: от 27,78% в Молчановском до 57,14% в Тегульдетском районах. В южных регионах: Томском, Асиновском, Зырянском,

Шегарском, Первомайском отмечена более низкая распространенность описторхозной инвазии – в среднем 20,35%. При этом, данный показатель варьировал в пределах 10,53 – 22,73% в Первомайском и Зырянском районах, соответственно [32].

В настоящее время также разработан принципиально новый метод – ПЦР диагностика гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* в режиме реального времени. Проведение реакции в режиме реального времени обеспечивает высокую специфичность, поскольку данный вид анализа исключает вероятность контаминации исследуемого материала другими ДНК и сводит к минимуму вероятность ложноположительных реакций. Принципиальной особенностью данного метода является возможность детекции накопления продуктов амплификации непосредственно в процессе её проведения. Кинетика накопления ампликонов напрямую зависит от числа копий исследуемой матрицы, что позволяет проводить количественные измерения ДНК в исходном материале и позволяет определить интенсивность инвазии [20].

В СибГМУ проведен ряд исследований, посвященных изучению влияния описторхозной инвазии на иммунологические процессы, определяющие развитие и течение аллергических заболеваний.

Так, у пациентов с БА, протекающей на фоне хронического описторхоза, отмечены достоверно более низкие, чем при изолированной БА, значения таких маркеров воспаления, как IL-4, IL-5, IFN- γ . Результаты обследования больных, проведенного через 6 мес. после дегельминтизации, демонстрируют нарастание уровня маркеров воспаления по сравнению с их исходными значениями. Отмечено также повышение уровня бронхиальной гиперреактивности и увеличение числа эозинофилов индуцированной мокроты после дегельминтизации [12].

В ходе дальнейших исследований, проведенных в СибГМУ, проведена оценка уровня экспрессии генов цитокинов IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β в краткосрочных культурах клеток пациентов различных клинических групп: у больных хроническим описторхозом, БА, а также у лиц с сочетанием этих

заболеваний. Отмечена тенденция к повышению экспрессии IL-10, TGF- β и снижению продукции цитокинов Th2-профиля: IL-4 и IL-5 в культурах клеток у больных сочетанной патологией. Таким образом, хроническая инвазия *Opisthorchis felineus* сопряжена с инициацией супрессии IL-4-зависимых механизмов воспаления за счет изменения цитокинового профиля (увеличения продукции IL-10, TGF- β) [8]. Установлено, что IL-5 ингибирует процесс программированной клеточной гибели эозинофилов, что способствует поддержанию аллергического воспаления [14]. Вероятно, супрессия Th2-направленного иммунного ответа при гельминтной инвазии ассоциирована с уменьшением активности воспаления в дыхательных путях вследствие восстановления механизмов регуляции апоптоза эозинофилов и мононуклеаров в связи с уменьшением экспрессии гена антиапоптотического эффектора IL-5 на фоне хронического описторхоза [9].

Установлено участие T-регуляторных клеток в модификации иммунного ответа при БА и АД на фоне хронической описторхозной инвазии. Так, при аллергических заболеваниях в сочетании с описторхозом отмечен более высокий уровень CD4⁺CD25^{high}-популяций регуляторных клеток, чем при изолированной алергопатологии. После дегельминтизации *Opisthorchis felineus* зарегистрировано значительное снижение содержания CD4⁺CD25^{high}, что свидетельствует о прекращении супрессивного влияния гельминта на иммунную систему хозяина [13].

Таким образом, ряд эпидемиологических, клинических и экспериментальных исследований продемонстрировал значимый вклад инвазии *Opisthorchis felineus* в формирование и течение аллергических заболеваний. За счет активации ряда супрессорных механизмов (индукции апоптоза эозинофилов, клональной экспансии T-регуляторных клеток, подавления продукции провоспалительных цитокинов) отмечается снижение вероятности развития и модификация клинического течения аллергических болезней, включая ПА. В этой связи представляет интерес изучение влияния описторхозной инвазии

на формирование пищевой сенсibilизации принимая во внимания механизмы развития и особенности естественного течения ПА к различным аллергенам. Полученные в ходе исследования данные послужат основой для разработки рекомендаций по оптимизации диагностики пищевой сенсibilизации в эндемичных по гельминтным инвазиям регионах, а также представят теоретическую базу для разработки ранних превентивных мероприятий в отношении аллергических болезней у детей.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКИЕ ГРУППЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследования

2.1.1. Описание «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе»

Настоящее исследование выполнено в рамках международного многоцентрового проекта «Исследование распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» по гранту VI рамочной программы Евросоюза (контракт № FP6-2006-ТТС-TU-5 Proposal 045879; главный исследователь в г. Томске член-корр. РАМН, д-р. мед. наук, профессор Л.М. Огородова) [171, 165].

Разработка, утверждение протокола и дальнейшее мониторингирование этапов работы осуществлялось координационным центром – отделом эпидемиологических исследований Имперского медицинского колледжа науки, технологии и медицины, (г. Лондон, Великобритания), а также Институтом исследований питания (г. Лондон, Великобритания).

Протокол исследования одобрен Локальным комитетом по этике при ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (заключение № 635 от 10.09. 2007) и согласован с Департаментом здравоохранения Администрации Томской области (согласование № 5090 от 18.09.2007), Департаментом образования Администрации города Томска (согласование № 01-20/1769 от 21.09.2007) и Департаментом общего образования Администрации Томской области (согласование № 2228/01-08 от 18.09.2007).

Исследование осуществлялось на следующих базах:

- ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России;
- Областной детский центр клинической иммунологии и аллергологии – Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения (ОГБУЗ) «Областная детская больница» Минздрава России, г. Томск;

- Общеобразовательные средние школы г. Томска и Томской области;
- Муниципальные учреждения здравоохранения (МУЗ) районов Томской области: МУЗ «Александровская ЦРБ», с. Александровское; МУЗ «Каргасокская ЦРБ» с. Каргасок; МУЗ «Колпашевская ЦРБ», г. Колпашево; МУЗ «Парабельская ЦРБ» с. Парабель, МУЗ «Тегульдетская ЦРБ», с. Тегульдет, МУЗ «Первомайская ЦРБ», с. Первомайское; МУЗ «Молчановская ЦРБ» с. Молчаново; МУЗ «Асиновская ЦРБ» г. Асино; МУЗ «Зырянская ЦРБ», с. Зырянское; МУЗ «Бакчарская ЦРБ», с. Бакчар; МУЗ, «Чаинская ЦРБ», с. Подгорное.

Схема «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» включала скрининговое и клиническое исследование. Скрининг выполнен в дизайне одномоментного эпидемиологического исследования, в котором приняли участие дети в возрасте 7 – 10 лет, учащиеся 1 – 4 классов общеобразовательных школ города Томска и Томской области (n=13010). Сформированы выборки детей, проживающих в трех географических регионах: в г. Томске, сельских районах с высокой распространенностью описторхоза и сельских районах с низкой распространенностью инвазии. Городская выборка сформирована рандомизированным образом, сельские выборки – сплошным методом. Проведено анкетирование родителей/опекунов с использованием «Скрининговых вопросников пищевой аллергии у детей», прошедших языковую адаптацию и валидизацию [171, 21]. По результатам скрининга с использованием рандомизации сформированы группы детей с симптомами ПА (n=652) и без таковых (n=636) для участия в последующем клиническом исследовании.

2.1.2. Схема настоящего исследования

В данной работе представлены результаты обследования детей, принявших участие в клиническом этапе «Исследование распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе». В соответствии с

поставленными целями и задачами предусмотрены три этапа исследования (рисунок 5):

1. Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности инвазии (Этап 1).
2. Исследование влияния *Opisthorchis felineus* на формирование пищевой сенсибилизации у детей (Этап 2).
3. Исследование пищевой сенсибилизации с использованием компонентной аллергодиагностики (Этап 3).

2.1.3. Методы исследования

Этап 1: Изучение распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности

- эпидемиологические методы;
- клинико–анамнестические методы:
 - интервьюирование родителей/опекунов с использованием «Клинического вопросника ПА у детей»;
 - клиническое обследование;
 - заполнение индивидуальной регистрационной карты;
- паразитологические методы:
 - копроовоскопия;
 - молекулярно-генетические методы: ПЦР-диагностика инвазии *Opisthorchis felineus* в режиме реального времени (лаборатория факультета паразитологии Медицинского центра Лейденского Университета, Нидерланды, рук. – проф. М. Язданбакш).

Этап 2: Исследование влияния *Opisthorchis felineus* на формирование пищевой сенсибилизации у детей

- аллергологические методы:
 - кожное прик-тестирование с пищевыми и аэроаллергенами (ALK–Abelló, Испания);

*Этап 1: Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности*

*Этап 2: Исследование влияния инвазии *Opisthorchis felineus* на формирование пищевой сенсibilизации у детей*

Этап 3: Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной аллергодиагностики

Городская выборка
(n=270)

Выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза (n=260)

Выборка сельских районов с низкой распространенностью описторхоза (n=203)

Больные хроническим описторхозом
с симптомами ПА (n=128)
без симптомов ПА (n=109)

Дети, не имеющие описторхозной инвазии
с симптомами ПА (n=311)
без симптомов ПА (n=185)

Больные хроническим описторхозом
с симптомами ПА (n=24)
без симптомов ПА (n=19)

Дети, не имеющие описторхозной инвазии
с симптомами ПА (n=89)
без симптомов ПА (n=39)

Методы исследования:

- Заполнение клинического вопросника (интервьюирование);
- Клиническое обследование;
- Заполнение индивидуальной регистрационной карты;
- Копроовоскопия
- ПЦР-диагностика описторхоза в режиме реального времени.

- КПТ
- Оценка уровня общего IgE сыворотки крови;
- Оценка уровня специфического IgE сыворотки крови.

- Компонентная аллергодиагностика.

Рисунок 5. Схема исследования

- иммунологические методы:

–оценка уровня общего IgE сыворотки крови (ImmunoCAP, Phadia, Швеция);

–оценка уровня специфического IgE сыворотки крови к пищевым и аэроаллергенам (ImmunoCAP, Phadia, Швеция).

Этап 3: Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной аллергодиагностики

–компонентная аллергодиагностика – оценка уровня IgE к аллергенным компонентам пищевых аллергенов классов I и II в сыворотке крови (ImmunoCAP ISAC, Phadia, Швеция).

2.2. Основные этапы исследования

2.2.1. Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* различной интенсивности (этап 1)

Из 1288 детей, принявших участие в клиническом этапе «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе», сформирована выборка для проведения настоящего исследования, в которую были включены дети ($n=733$), у которых по данным копроовоскопического исследования исключены инвазии простейшими (*Lambliа intestinalis*) и гельминтами (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis* и т.д.). Исследованию предшествовала выдача информационных листов и информированного согласия родителям/опекунам для ознакомления. В ходе данного этапа сформированы выборки детей, проживающих в трех географических регионах:

- Городская выборка: г. Томск ($n=270$, средний возраст $8,34\pm 1,06$ лет);
- Выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза ($n=260$, средний возраст $9,01\pm 0,84$ лет);
- Выборка сельских районов с низкой распространенностью инвазии ($n=203$, средний возраст $8,78\pm 1,46$ лет).

Городская выборка сформирована рандомизированным образом. Сельские выборки – сплошным методом. По данным пилотного исследования 2006 г. распространенность описторхоза в г. Томске составила 11,2%, что значительно ниже, чем в сельских районах [38, 39]. Стратификация сельских районов Томской области в зависимости от высокой и низкой распространенности описторхозной инвазии осуществлена в соответствии с данными официальной медицинской статистики и результатами предшествующих пилотных исследований. Так, в ходе изучения в 1979–1982 г.г. сотрудниками СибГМУ пораженности детей описторхозом, были выделены районы, характеризующиеся наиболее высокими показателями [2, 32]. К районам с высокой распространенностью описторхоза отнесены северные и северо-восточные районы: Александровский, Чаинский, Молчановский, Колпашевский, Бакчарский, Кургаский, Тегульдетский. По данным ПЦР-диагностики, распространенность описторхозной инвазии в этих районах составила в среднем 35,14% с широким диапазоном колебаний: от 27,78% в Молчановском и до 57,14% в Тегульдетском районах [32].

Южные районы – Томский, Асиновский, Зырянский, Шегарский, Первомайский обозначены как регионы с низкой распространенностью описторхоза, где средний показатель распространенности описторхозной инвазии составил 20,35% с разбросом показателей от 10,53% в Первомайском районе до 22,73% в Зырянском районе [32].

Интервьюирование

Интервьюирование родителей/опекунов проведено с помощью «Клинического вопросника ПА у детей», прошедшего языковую адаптацию и валидизацию, разработанного совместно с координационным центром. Вопросник содержал разделы об основных триггерах симптомов ПА, возрасте манифестации, характере клинических проявлений. В ходе интервьюирования родителей / опекунов получена информация о наличии у детей таких аллергических заболеваний, как БА, АР, АД. В структуре вопросника предусмотрены разделы, касающиеся характера вскармливания, наличия

инфекционных заболеваний в раннем возрасте, характера социально–бытовых условий, а также присутствуют разделы, посвященные вопросам семейного анамнеза и наличию аллергических заболеваний у родственников [1, 171].

Клиническое обследование и заполнение индивидуальной регистрационной карты

Процедура клинического обследования включала сбор жалоб, анамнеза и объективное обследование: общий осмотр, обследование кожных покровов, лимфатических узлов, органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, органов желудочно-кишечного тракта, костно-мышечной системы. Особое внимание уделено симптомам аллергических заболеваний, а также диагностическим процедурам, которые проводились в отношении этих патологических состояний [1]. Симптомами острого течения описторхозной инвазии считали лихорадку, а также выраженный болевой синдром в правом подреберье, увеличение печени, положительные «пузырные» симптомы: Кера, Мерфи в течение 12 – 16 недель, предшествовавших исследованию [5, 2, 43]. Для диагностики данного состояния принимались во внимание анамнестические данные и результаты предшествующих диагностических мероприятий.

Также проводили измерение систолического и диастолического артериального давления (в мм рт. ст.), частоты пульса (уд/мин), измеряли рост и массу тела.

Индивидуальная регистрационная карта заполнялась врачом–исследователем во время визита с учетом результатов клинического и аллергологического исследований и содержала следующие основные разделы:

–паспортные и демографические данные;

–жалобы;

–аллергологический анамнез (отягощенность семейного аллергоанамнеза; табакокурение; экспозиция аллергенов в помещении; наличие в анамнезе диагноза бронхиальной астмы, атопического дерматита, аллергического ринита; наличие в анамнезе астмаподобных симптомов, зудящих кожных высыпаний,

длительного затруднения носового дыхания; проведенные ранее диагностические и лечебные мероприятия);

–рыбный анамнез: рыбный промысел в семье; обработка и разделка речной рыбы в домашних условиях с использованием кухонной утвари общего пользования, употребление сырой, вяленой или не достаточно термически обработанной речной рыбы;

–наличие в анамнезе проявлений холангиохолецистита, интоксикационного синдрома, рецидивирующих кожных высыпаний, желтухи, диспепсических расстройств;

–оценка объективного статуса (по результатам физикального осмотра);

–результаты выполнения кожных аллергопроб;

–заключение, рекомендации.

Копроовоскопия

Копроовоскопическое исследование проводили в условиях клинической лаборатории ОГБУЗ «Областная детская больница» по методу Като. Для проведения исследования использовали утреннюю порцию фекалий пациентов. Фрагмент материала с помощью деревянной палочки, наносили на стекло и растирали, затем накрывали целлофановой полоской, пропитанной раствором Като, прокатывали валиком для получения равномерного слоя. После экспозиции при комнатной температуре проводили микроскопию [28].

*ПЦР-диагностика инвазии *Opisthorhis felineus* в режиме реального времени*

Идентификацию дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) яиц *Opisthorhis felineus* в образцах стула с последующим проведением ПЦР в режиме реального времени осуществляли на базе лаборатории факультета паразитологии Медицинского центра Лейденского Университета (Нидерланды, рук. – проф. М. Язданбакш) [10].

Для проведения исследования использовали утреннюю порцию фекалий пациентов. Фрагмент материала с помощью деревянной палочки и помещали в

специальный флакон для хранения при $T -86C$ и отправляли в лабораторию. Выделение ДНК яиц *Opisthorchis felinus* из фекалий осуществляли с помощью набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden Germany). Реакция амплификации осуществлялась с использованием Taq-полимеразы и специфических праймеров Of350F и Of418R (Qiagen, Hilden, Germany) в сопровождении негативного и позитивного контроля. Амплификация, детекция и интерпретация результатов ПЦР - анализа осуществлялась с помощью тест-системы «CFX96 Touch real-time PCR detection» (Bio-Rad laboratories, Veenendaal, The Netherlands). Отличительной особенностью ПЦР-диагностики в режиме реального времени является регистрация процесса накопления ампликонов непосредственно в ходе реакции полимеризации. Кинетика накопления ампликонов в ходе амплификации напрямую зависит от числа копий исследуемой матрицы, и отображается на экране в виде кривых накоплений флуоресцентного сигнала. Полученный результат считали положительным, если кривая флуоресцентного сигнала пересекала пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции и для него определяли значение коэффициента $St < 40$. Интенсивность инвазии оценивали в зависимости от количества циклов амплификации, необходимого для достижения порогового уровня флуоресценции. Так, значение St обратно пропорционально интенсивности инвазии, поскольку чем большее количество исходного материала содержится в образце стула, тем меньшее количество циклов амплификации необходимо для достижения порогового значения. Для определения степени выраженности инвазии приняты следующие значения St :

35 – 40 – низкая интенсивность инвазии;

30 – 34 – средняя интенсивность инвазии;

< 29 – высокая интенсивность инвазии.

Образец считали отрицательным, если кривые флуоресценции для данного образца не пересекали пороговую линию, при этом значение St определялось как ≥ 40 [10].

2.2.2. Исследование влияния *Opisthorchis felineus* на формирование пищевой сенсibilизации у детей (этап 2)

Данный этап исследования выполнен в дизайне одномоментного исследования «случай-контроль» в рамках эпидемиологического исследования. По результатам ПЦР-диагностики в режиме реального времени и клинического обследования, проведенного в рамках этапа 1, все участники исследования стратифицированы следующим образом (рисунок 4):

- больные хроническим описторхозом (n=237):
 - больные хроническим описторхозом с симптомами ПА (n=128, средний возраст $9,01 \pm 1,05$ лет);
 - больные хроническим описторхозом, без симптомов ПА (n=109, средний возраст $8,95 \pm 1,01$ лет).
- дети, не имеющие хронической описторхозной инвазии (n=496):
 - дети, не имеющие хронической описторхозной инвазии, с симптомами ПА (n=311, средний возраст $8,75 \pm 1,06$ лет);
 - дети, не имеющие хронической описторхозной инвазии, без симптомов ПА (n=185, средний возраст $8,83 \pm 1,12$ лет).

Критерии включения в группу больных хроническим описторхозом с симптомами ПА:

- Положительный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felineus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;
- Отсутствие симптомов острого описторхоза при клиническом обследовании и/или в течение 12 – 16 недель, предшествующих исследованию;
- Отсутствие хронических заболеваний в периоде обострения
- Наличие симптомов ПА к одному из продуктов питания, наиболее часто вызывающих аллергию у детей: коровье молоко, куриное яйцо, рыба, креветки, арахис, фундук, яблоко, персик, сельдерей, киви, горчица, кунжут,

ся, грецкий орех, пшеница, гречиха, морковь, томат, банан, чечевица, подсолнечник, дыня, кукуруза, мак («Клинический вопросник ПА у детей»);

- Пациенты, родители / опекуны которых подписали информированное согласие для участия в исследовании.

Критерии исключения из группы больных хроническим описторхозом с симптомами ПА:

- Отрицательный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felineus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;
- Наличие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Наличие симптомов острого описторхоза при клиническом обследовании и/или в течение 12 – 16 недель, предшествующих исследованию;
- Несогласие пациентов и/или их родителей участвовать в исследовании.

Критерии включения в группу больных хроническим описторхозом без симптомов ПА:

- Положительный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felineus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;
- Отсутствие симптомов острого описторхоза при клиническом обследовании и/или в течение 12 – 16 недель, предшествующих исследованию;
- Отсутствие симптомов ПА по результатам клинического интервьюирования;
- Отсутствие хронических заболеваний в периоде обострения
- Пациенты, родители / опекуны которых подписали информированное согласие для участия в исследовании.

Критерии исключения из группы больных хроническим описторхозом без симптомов ПА:

- Отрицательный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felineus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;

- Наличие симптомов острого описторхоза при клиническом обследовании и/или в течение 12 – 16 недель, предшествующих исследованию;
- Наличие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Несогласие пациентов и/или их родителей участвовать в исследовании.

Критерии включения в группу детей, не имеющих описторхоза, с симптомами ПА:

- Наличие симптомов ПА к одному из продуктов питания, наиболее часто вызывающих аллергию у детей: коровье молоко, куриное яйцо, рыба, креветки, арахис, фундук, яблоко, персик, сельдерей, киви, горчица, кунжут, соя, грецкий орех, пшеница, гречиха, морковь, томат, банан, чечевица, подсолнечник, дыня, кукуруза, мак («Клинический вопросник ПА у детей»);
- Отрицательный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felinus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;
- Отсутствие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Пациенты, родители / опекуны которых подписали информированное согласие для участия в исследовании.

Критерии исключения группы детей, не имеющих описторхоза, с симптомами ПА:

- Наличие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Несогласие пациентов и/или их родителей участвовать в исследовании.

Критерии включения в группу детей, не имеющих описторхоза, без симптомов ПА:

- Отсутствие симптомов ПА по результатам клинического интервьюирования;
- Отсутствие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Отрицательный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felinus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;

- Пациенты, родители / опекуны которых подписали информированное согласие для участия в исследовании.

Критерии исключения из группы детей, не имеющих описторхоза, без симптомов ПА:

- Наличие хронических заболеваний в периоде обострения;
- Несогласие пациентов и / или их родителей участвовать в исследовании.

Терминология и критерии диагностики

Пациентами, имеющими симптомы ПА, считали респондентов, в анамнезе которых были указания на наличие симптомов когда-либо к одному из продуктов питания, наиболее часто вызывающих аллергию у детей: коровье молоко, куриное яйцо, рыба, креветки, арахис, фундук, яблоко, персик, сельдерей, киви, горчица, кунжут, соя, грецкий орех, пшеница, гречиха, морковь, томат, банан, чечевица, подсолнечник, дыня, кукуруза, мак («Клинический вопросник ПА у детей»);

Диагноз хронического описторхоза устанавливали при наличии следующих критериев:

- Положительный результат диагностики инвазии *Opisthorchis felinus* в образцах стула по результатам ПЦР в режиме реального времени;
- Отсутствие симптомов острого описторхоза при клиническом обследовании и/или в течение 12 – 16 недель, предшествующих исследованию.

Кожное алерготестирование

Процедуру КПТ проводили в соответствии со стандартами Европейской Академии Аллергии и Клинической Иммунологии [141].

Противопоказаниями к проведению КПТ являлись: период обострения аллергических заболеваний, использование антиаллергических препаратов (длительно-действующие антигистаминные препараты должны быть отменены за 2 месяца (астемизол); кетотифен, трициклические антидепрессанты должны быть отменены за 15 дней; бета-блокаторы должны быть отменены за 5 дней; не должны использоваться топические глюкокортикостероиды).

В исследовании использовали следующие аллергены (ALK-Abelló, Испания):

- пищевые: аллергены арахиса, молока, сои, куриного яйца, яблока, пшеницы, дыни, рыбы, подсолнечника, моркови, томата;
- аэроаллергены: микст аллергенов клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronissinus* и *Dermatophagoides farinae*; аллергены таракана, пыльцы сорных трав, пыльцы полыни, пыльцы амброзии, пыльцы березы.

Процедура кожного аллертестирования предусматривала использование позитивного контроля (раствора гистамина 10 мг/мл) для оценки нормальной реактивности кожи, а также негативного контроля (тест-контрольной жидкости) для исключения неспецифических кожных реакций. Местная реакция на аллерген оценивалась через 15 минут. Результаты КПТ учитывали только в случае отрицательной реакции на тест-контрольную жидкость, и положительной реакции на 0,01% раствор гистамина. Измеряли большой и малый диаметр папулы, средний диаметр вычисляли по формуле $(D+d)/2$. Реакция считалась положительной в случае, если средний диаметр папулы на аллерген на 1мм и более превышал негативный контроль [141].

Оценка уровня общего IgE сыворотки крови

Уровень общего IgE в сыворотке крови оценивали методом ImmunoCAP (Phadia, Швеция) в лаборатории факультета экспериментальной иммунологии Академическом Медицинском Центре Университета Амстердама (проф. Р. Ван Ри, Нидерланды).

Метод ImmunoCAP представляет собой иммунофлюоресцентный анализ содержания специфического IgE аллергенов и их структурных компонентов в сыворотке крови с использованием автоматического анализатора ImmunoCAP 250 (Phadia, Швеция) [102]. В основе технологии ImmunoCAP лежит использование аллергенов (нативных или рекомбинатных) фиксированных на твердой фазе, состоящей из производной целлюлозы. Данный полимер имеет разветвленную структуру и отличается высокой гидрофильностью, в связи с чем представляет

оптимальную среду для фиксации аллергена. Подобного рода твердофазный компонент, с содержащимися на нем специфическими аллергенами, обладает высокой способностью необратимо связывать антитела сыворотки крови в соответствии с их афинностью, при низкой способности к неспецифическому связыванию (рисунок 6). Диагностически значимым считали титр $IgE \geq 100$ кЕдА/л в сыворотке крови [102].

Оценка уровня специфического IgE сыворотки крови

Исследование проводили в лаборатории факультета экспериментальной иммунологии Академическом Медицинском Центре Университета Амстердама (проф. Р. Ван Ри, Нидерланды). Уровень специфического IgE сыворотки крови к пищевым и аэроаллергенам оценивался с помощью метода ImmunoCAP (Phadia, Швеция; рисунок 7). Исследовалось содержание специфического IgE к пищевым аллергенам (подсолнечник, грецкий орех, помидор, яблоко, киви, ананас, лесной орех, пшеница, соя, сельдерей, арахис, морковь персик, кунжут, горчица, треска, креветка, карп, куриное яйцо, молоко), пыльцевым аллергенам (береза, полынь, микст сорных трав), бытовым аллергенам (клещ домашней пыли, шерсть кошки) методом ImmunoCAP (Phadia, Швеция,). В соответствии с протоколом оценку уровня специфического IgE в сыворотке к крови к «приоритетным» продуктам питания осуществляли по следующему алгоритму: всем участникам исследования проводили исследование содержания специфического IgE к пяти нижеследующим комбинациям аллергенов.

Микст 1: куриное яйцо, коровье молоко, соя, арахис, пшеница, рыба;

Микст 2: кунжут, пшеница, гречиха, кукуруза, рис;

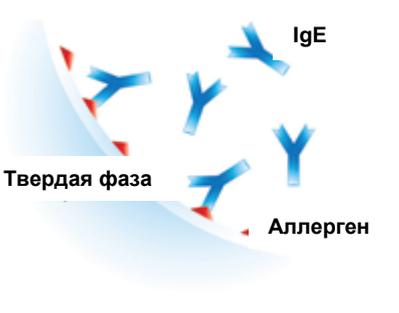
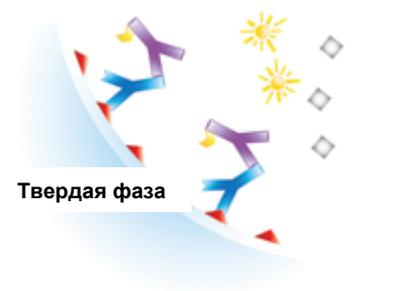
Микст 3: лесной орех, томат, грецкий орех, морковь, сельдерей;

Микст 4: креветки, мак, чечевица, горчица, подсолнечник;

Микст 5: яблоко, киви, дыня, банан, персик.

		<p>Анти-IgE, ковалентно связанные с твердой фазой, вступают в реакцию с IgE сыворотки крови пациента.</p>
2		<p>После промывания добавляется раствор, содержащий меченные ферментами анти-IgE для формирования комплекса. Далее следует инкубация.</p>
3		<p>После инкубации несвязанные меченные ферментами анти-IgE вымываются. К образовавшемуся сложному комплексу добавляется флюоресцирующий реагент.</p>
4		<p>После окончания реакции измеряется уровень флюоресценции. Для количественной интерпретации результата уровень флюоресценции сравнивается с калибровочной кривой.</p>

Рисунок 6. Последовательность процедур определения общего IgE [102]

1		<p>Исследуемый аллерген, ковалентно связанный с твердой фазой, реагирует со специфическим IgE сыворотки крови пациента, образуя стойкий комплекс аллерген-антитело.</p>
2		<p>После промывания неспецифических антител, не связавшихся с аллергеном, добавляются анти-IgE, меченые ферментами, для соединения с комплексом аллерген-антитело.</p>
3		<p>После инкубирования удаляются оставшиеся несвязанными анти-IgE; образовавшийся комплекс подвергается воздействию флюоресцирующего реактива.</p>
4		<p>После окончания реакции измеряется уровень флюоресценции и сравнивается с калибровочной кривой для количественной интерпретации результата.</p>

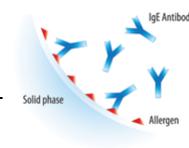


Рисунок 7. Последовательность процедур определения специфического IgE [102]

При наличии диагностического значения IgE ($\geq 0,35$ кЕдА/л) в сыворотке крови к какой-либо из указанных комбинаций у пациента, производилось определение уровня содержания каждого из составляющих компонентов.

2.2.3. Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной аллергодиагностики (этап 3)

Данный этап проведен в дизайне одномоментного исследования «случай контроль» в рамках эпидемиологического исследования. Молекулярный аллергологический анализ выполнен у лиц, имеющих пищевую сенсibilизацию по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови, и у несенсibilизированных пациентов, выбранных рандомизированным образом:

- больные хроническим описторхозом (n=43):
 - с симптомами ПА (n=19, средний возраст $8,98 \pm 0,21$);
 - без симптомов ПА (n=24, средний возраст $8,93 \pm 0,23$).
- дети, не имеющие хронического описторхоза (n=128):
 - с симптомами ПА (n=89, средний возраст $8,82 \pm 0,19$);
 - без симптомов ПА (n=39, средний возраст $8,86 \pm 0,11$).

В ходе исследования проводили оценку уровня специфического IgE в сыворотке крови к аллергеным компонентам пищевых аллергенов классов I и II в сыворотке крови и к пыльцевому аллергену березы Bet v1 [150]. Исследуемые аллергены распределены в соответствии с двумя основными классами пищевых белков (таблица 4) [136].

Исследование выполнено в лаборатории факультета экспериментальной иммунологии Академическом Медицинском Центре Университета Амстердама (проф. Р. Ван Ри, Нидерланды).

Для определения содержания специфического IgE к аллергеным компонентам в сыворотке крови использовался тест ImmunoCap ISAC (Phadia, Швеция) [127]. В основе метода также лежит иммунофлуоресцентная реакция

иммуноглобулинов сыворотки с аллергенами, фиксированными в твердой фазе. (рисунок 8).

Таблица 2

Исследуемые группы пищевых аллергенов

Пищевые аллергены класса I		Пищевые аллергены класса II
Животного происхождения	Растительного происхождения	
Молоко: Bos d5; Куриное яйцо: Gal d 2; Рыба: Сур с1.	Яблоко: Mal d3; Персик: Pru p3; Арахис: Ara h1, Ara h2/6, Ara h3/4; Фундук: Cor a8, Cor a11.	Яблоко: Mal d1; Персик: Pru p1; Арахис: Ara h8; Фундук: Cor a1.

В данной модификации теста твердая фаза представлена в виде решетки с множеством ячеек (иммуночип). В каждой ячейке фиксированы различные аллергенные протеины. В результате контакта с сывороткой пациента происходит связывание содержащихся в сыворотке IgE с аллергенами твердой фазы

Для детекции количества связанного иммуноглобулина добавляли флюоресцирующие антитела к IgE. Затем, с помощью лазерного сканера CapitalBio LuxScan производили считывание полученного флюоресцирующего изображения. Интерпретацию степени флуоресценции также производили посредством специального программного обеспечения Microarray Image Analyzer в соответствии с калибровочной шкалой [128].

В данной модификации теста твердая фаза представлена в виде решетки с множеством ячеек (иммуночип). В каждой ячейке фиксированы различные аллергенные протеины. В результате контакта с сывороткой пациента происходит связывание содержащихся в сыворотке IgE с аллергенами твердой фазы

Для детекции количества связанного иммуноглобулина добавляли флюоресцирующие анти-IgE. Затем, с помощью лазерного сканера CapitalBio LuxScan производили считывание полученного флюоресцирующего изображения. Интерпретацию степени флуоресценции также производили посредством

Колмогорова-Смирнова. Данные группировали в соответствии с задачами исследования. Изучение распространенности заболеваний и признаков рассчитывали как отношение числа лиц, у которых наблюдается данное состояние, к числу всех обследованных лиц в выборке. Для оценки различия средних величин в несвязанных выборках использовали U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения частот качественных признаков использовали критерий χ^2 -Пирсона, а в группах менее 5 человек – с поправкой Йетса на непрерывность. Для оценки вероятностей развития события применяли метод отношения шансов и относительного риска посредством программного продукта «Statcalc». Анализ зависимости количественного признака от одного и более количественных и качественных признаков проводили с помощью линейного регрессионного анализа. Связь бинарного признака с одним или несколькими количественными и / или качественными признаками оценивали с помощью логистического регрессионного анализа. Использовали ROC-анализ. Статистически значимыми различиями считали таковые при $p < 0,05$ [33, 17].

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ИНВАЗИИ OPISTHORCHIS FELINEUS РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ (ЭТАП 1)

3.1. Клиническая характеристика выборок

Выполнено одномоментное эпидемиологическое исследование в репрезентативных выборках детей в возрасте 7 – 10 лет, проживающих в г. Томске и Томской области, принявших участие в эпидемиологическом «Исследовании распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе». В исследовании приняли участие 733 ребенка в возрасте 7–10 лет, проживающих в трех географических районах:

- Городская выборка: г. Томск (n=270, средний возраст $8,34 \pm 1,06$ лет);
- Сельская выборка 1: сельские районы с высокой распространенностью описторхоза (n=260, средний возраст $9,01 \pm 0,84$ лет);
- Сельская выборка 2 сельские районы с низкой распространенностью инвазии (n=203 средний возраст $8,78 \pm 1,46$ лет).

Распределение обследованных детей в исследуемых выборках в зависимости от пола представлено в таблице 3.

Таблица 3

Распределение участников исследования по полу

Выборки	Пол	Мальчики		Девочки	
		n	%	n	%
Городская выборка		132	48,89	138	51,11
Выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза		134	51,54	126	48,46
Выборка сельских районов с низкой распространенностью описторхоза		99	48,77	104	51,23

Примечание: различия в выборках статистически не значимы

3.2. Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* методом ПЦР в режиме реального времени у детей, проживающих в г. Томске и сельских районах Томской области

Согласно полученным результатам, у 32,33% (n=237) обследованных детей в образцах стула регистрировалась ДНК *Opisthorchis felineus*. Проведенный анализ показал, что положительные результаты диагностики, а также описторхозная инвазия различной интенсивности регистрировалась с одинаковой частотой у мальчиков и у девочек (таблица 4).

Таблица 4

Распределение участников по полу и возрасту в зависимости от интенсивности инвазии

Выборки	Инвазия <i>Opisthorchis felineus</i>	Средний возраст, лет (M±m)	Девочки n, (%)	Мальчики n, (%)
Городская выборка (n=270)	Нет инвазии	8,71±0,07	110 (48,67)	116(51,33)
	Высокая интенсивность	8,47±0,30	5 (50,00)	5 (50,00)
	Средняя интенсивность	9,11±0,34	6 (75,00)	2 (25,00)
	Низкая интенсивность	8,92±0,19	11 (42,31)	15 (57,69)
Выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза (n=260)	Нет инвазии	8,75±0,10	71 (52,59)	64 (47,41)
	Высокая интенсивность	9,11±0,12	41 (51,90)	38 (48,10)
	Средняя интенсивность	9,03±0,20	15 (50,00)	15 (50,00)
	Низкая интенсивность	8,95±0,25	7 (43,75)	9 (56,25)
Выборка сельских районов с низкой распространенностью описторхоза (n=203)	Нет инвазии	8,95±0,09	67 (49,63)	68 (50,37)
	Высокая интенсивность	8,96±0,17	14 (36,84)	24 (63,16)
	Средняя интенсивность	8,98±0,34	7 (53,85)	6 (46,15)
	Низкая интенсивность	8,78±0,22	11 (64,71)	6 (35,29)

Примечание: различия статистически не значимы

В районах с высокой распространенностью описторхоза отмечен наиболее высокий показатель, который составил 48,08%, что статистически значимо выше, чем в районах с низкой распространенностью описторхозной инвазии, где позитивный результат ПЦР-диагностики зарегистрирован у 33,5% обследованных ($p=0,01$). Среди школьников, проживающих в городе Томске, наличие гельминтной инвазии по результатам ПЦР-диагностики определялось у 16,29% обследованных. Статистический анализ также показал, что распространенность описторхоза у городских школьников статистически значимо ниже, чем у обследованных из обеих сельских выборок ($p=0,01$, при парных сравнениях).

Анализ результатов определения интенсивности инвазии показал, что у 53,59% детей, имевших положительные результаты ПЦР-диагностики, регистрировалась гельминтная инвазия высокой интенсивности (таблица 5).

Таблица 5

Распространенность инвазии различной интенсивности в исследуемых выборках

Показатели Выборки	Распростра- ненность инвазии, n (%)	Интенсивность инвазии		
		Высокая n (%)	Средняя n (%)	Низкая n (%)
Городская выборка (n=270)	44*, ** (16,29%)	10 *, ** (22,73%)	8 (18,18%)	26*, ** (59,09%)
Выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза (n=260)	125** (48,08%)	79 (63,2%)	30 (24,0%)	16 (12,80%)
Выборка сельских районов с низкой распространенностью описторхоза (n=203)	68 (33,5%)	38 (55,9%)	13 (19,18%)	17 (25,0%)
Все выборки (n=733)	237 (32,33%)	127 (53,59%)	51 (21,52%)	59 (24,89%)

*– $p<0,05$ при сравнении с показателями в выборке сельских районов с высокой распространенностью описторхоза (χ^2 Пирсона)

**– $p<0,05$ при сравнении с показателями в выборке сельских районов с низкой распространенностью описторхоза (χ^2 Пирсона)

Инвазия средней и низкой интенсивности диагностировалась реже: у 21,52% (n=51) и 24,89% (n=59) детей, соответственно.

Результаты исследования свидетельствуют, что показатели распространенности различной интенсивности инвазии *Opisthorchis felineus* у школьников, проживающих в городе и в сельских районах, распределены не одинаковым образом. Так, в городе Томске статистически значимо чаще регистрировалась гельминтная инвазия низкой интенсивности. В сельских районах, как с высокой, так и с низкой распространенностью описторхоза, высокий уровень инвазии регистрировался статистически значимо чаще, чем инвазия средней и низкой интенсивности (рисунок 9).

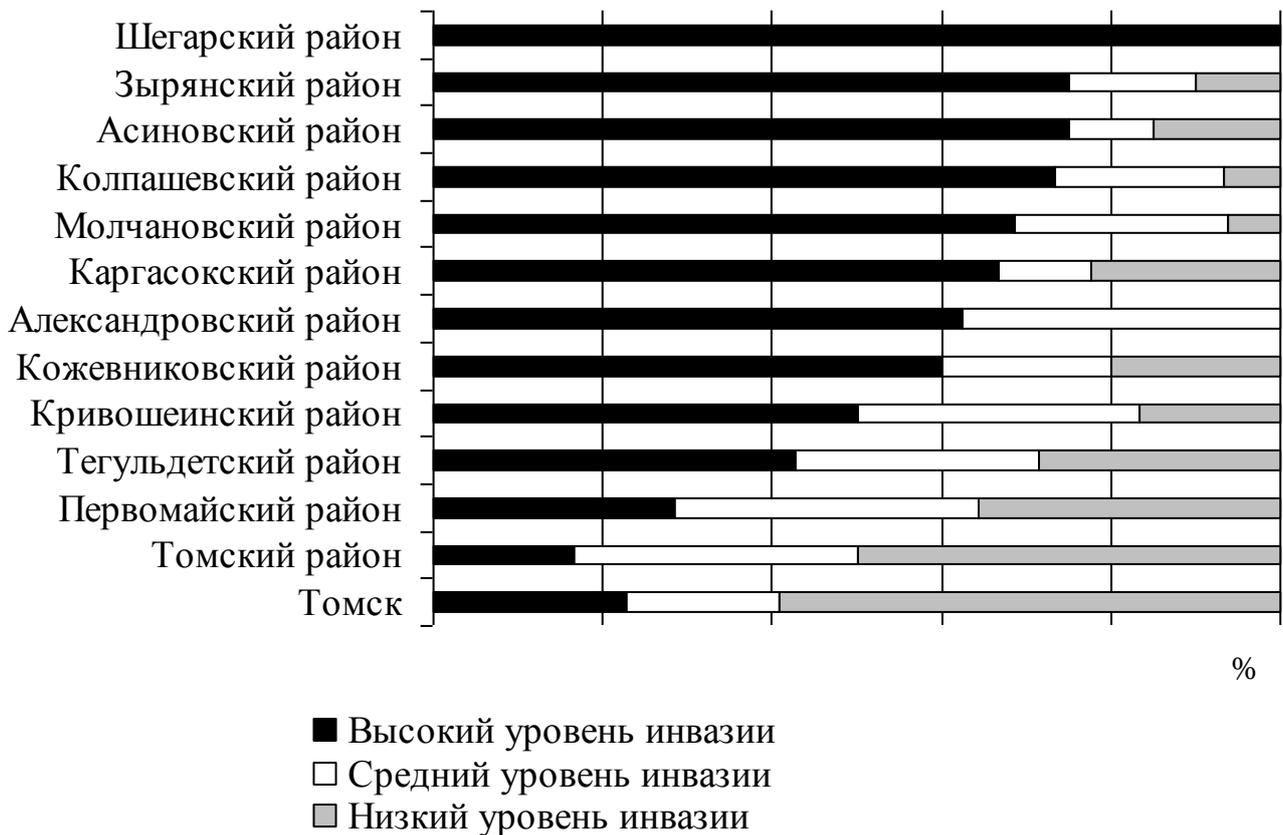


Рисунок 9. Интенсивность гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* в городе Томске и районах Томской области по результатам ПЦР–диагностики в режиме реального времени

В соответствии с полученными результатами, наибольшие показатели распространенности описторхозной инвазии отмечены в районах, которые по данным предшествующих исследований определены как районы с высокой распространенностью описторхоза (Александровский, Чаинский, Молчановский, Колпашевский, Бакчарский, Каргасокский, Тегульдетский районы). При этом, в г. Томске отмечена наименьшая распространенность описторхозной инвазии, а в районах, которые по данным предшествующих исследований определены как районы с низкой распространенностью описторхоза, указанный показатель имел промежуточное значение (Томский, Асиновский, Зырянский, Шегарский, Первомайский районы).

Проведенный анализ распространенности гельминтной инвазии различной интенсивности показал, что в сельских районах преобладает инвазия высокой интенсивности, в том числе и в районах с низкой распространенностью описторхоза (рисунок 9). Так, в Шегарском районе диагностирована гельминтная инвазия только высокой интенсивности. Также, наиболее часто показатели высокой интенсивности инвазии регистрировались в Зырянском, Асиновском, Колпашевском районах.

Резюме:

1. По результатам ПЦР-диагностики в режиме реального времени распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* у детей 7 – 10 лет в г. Томске составила 16,29%, в сельских районах с высокой распространенностью описторхоза – 48,08%, в сельских районах с низкой распространенностью гельминтной инвазии – 33,5% ($p < 0,05$ при попарных сравнениях показателей в городской и сельских выборках).
2. Высокая интенсивность инвазии наиболее часто диагностируется в сельских районах с высокой и низкой распространенностью описторхоза в сравнении с выборкой г. Томска (63,2%, 55,9%, 22,73% соответственно, $p < 0,05$ при попарных сравнениях выборки г. Томска с сельскими выборками).

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНВАЗИИ *OPISTHORCHIS FELINEUS* НА ФОРМИРОВАНИЕ ПИЩЕВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ (ЭТАП 2)

4.1. Клиническая характеристика групп

Данный этап исследования выполнен в дизайне одномоментного исследования «случай-контроль» в рамках эпидемиологического исследования.

По результатам этапа 1 на основании результатов ПЦР–диагностики описторхоза в режиме реального времени, а также клинического обследования, которое включало интервьюирование, сбор анамнеза и физикальное исследование, сформированы две группы пациентов: больные хроническим описторхозом и дети, не имеющие гельминтной инвазии. В зависимости от наличия или отсутствия симптомов ПА по результатам интервьюирования родителей / опекунов, группы стратифицированы следующим образом:

- больные хроническим описторхозом:

–больные хроническим описторхозом с симптомами ПА (n=128; средний возраст $9,01 \pm 1,05$ лет);

–больные хроническим описторхозом, без симптомов ПА (n=109; средний возраст $8,95 \pm 1,01$ лет);

- дети, не имеющие описторхоза:

–дети, не имеющие описторхоза, с симптомами ПА (n=311; средний возраст $8,75 \pm 1,06$ лет);

–дети, не имеющие описторхоза, без симптомов ПА (n=185; средний возраст $8,83 \pm 1,12$ лет).

Исследуемые группы сопоставимы по полу и среднему возрасту участников (таблица 6).

Распределение участников исследования по полу

Группы	Пол	Мальчики		Девочки	
		n	%	n	%
Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА		67	52,34	61	47,65
Больные хроническим описторхозом, без симптомов ПА		50	45,87	59	54,13
Дети, не имеющие описторхоза, с симптомами ПА		145	46,62	166	53,38
Дети, не имеющие описторхоза, без симптомов ПА		98	52,97	87	47,03
Итого		365	49,79	368	50,21

Примечание: различия в группах статистически не значимы

4.1.1. Клиническая характеристика больных хроническим описторхозом

Группу больных хроническим описторхозом составили дети (n=237), у которых регистрировался положительный результат ПЦР-диагностики *Opisthorchis felinus* в образцах фекалий и при этом отсутствовали симптомы острого описторхоза в течение 12 - 16 недель, предшествовавших исследованию. Заболевание хроническим описторхозом в анамнезе отмечалось у 35,45% детей. На употребление речной рыбы указывали 79,74% обследованных, наличие рыбного промысла в семье отмечали 54,85% респондентов. По данным семейного анамнеза у 45,56% обследованных детей члены семьи заражены описторхозом.

По результатам проведенного клинического исследования установлено, что у 40,51% обследованных отмечалась латентная форма, а у 59,49% пациентов диагностировалось клинически выраженное течение хронического описторхоза. Среди клинических проявлений наиболее часто отмечались боли в животе – у

71,43% детей и снижение аппетита – у 51,77% пациентов. Также наблюдались диспепсические расстройства в виде тошноты и рвоты (39,72%), отрыжки (27,6%), изжоги (18,44%), отмечались нарушения стула в виде диареи (21,28%), запоров (24,11%). Около трети пациентов (32,63%) указывали на слабость, периодические головокружения; боли в мышцах и суставах отмечали 14,89% обследованных.

Среди пациентов с клинически выраженной формой описторхоза 60,28% составляли дети с высокой степенью зараженности, в то время как средний и низкий уровень отмечен только у 16,71% и 23,4% больных, соответственно.

У лиц с высокой интенсивностью инвазии чаще отмечались клинические проявления в виде болевого синдрома (81,17%), в то время как при инвазии средней и низкой интенсивности симптомы наблюдались у 61,22% и 57,54% пациентов, соответственно ($p < 0,05$ при попарных сравнениях). Также у больных с высокой и средней степенью зараженности чаще регистрировался астеновегетативный синдром – у 45,88% и 43,47% обследованных, соответственно, а при инвазии низкой интенсивности указанные явления отмечались статистически значимо реже: 18,18% соответственно ($p < 0,05$ при попарных сравнениях). У одного пациента, имеющего высокую степень зараженности, отмечено наличие холангиогепатита в анамнезе.

В соответствии с протоколом, в данном эпидемиологическом исследовании не предусмотрено использование таких инструментальных методов как эзофагодуоденгастроскопия, дуоденальное зондирование, ультразвуковая диагностика. Однако, проведенный анализ медицинской документации в амбулаторных картах пациентов позволил установить, что у 26,24% обследованных детей с клинически выраженной формой описторхоза отмечалось наличие холецистита по данным лабораторного и инструментального исследования, у 24,82% школьников диагностирована дискинезия желчевыводящих путей. Также, у 17,73% пациентов отмечалось наличие дуоденогастрального рефлюкса по данным эзофагодуоденгастроскопии. Всем пациентам, у которых в ходе исследования был установлен диагноз хронической

описторхозной инвазии, рекомендовано обследование и лечение в плановом порядке в отделении гастроэнтерологии ОГБУЗ «Областная детская больница».

4.1.2. Характеристика коморбидной патологии

По данным клинического интервьюирования такие аллергические заболевания как АР, АД, БА наиболее часто регистрировались среди школьников с симптомами ПА; среди пациентов, не имеющих симптомы ПА, распространенность указанных заболеваний была минимальной, независимо от наличия или отсутствия хронического описторхоза (таблица 7).

При анализе особенностей клинического течения БА в зависимости от наличия описторхоза установлено, что возраст манифестации болезни у пациентов с хроническим описторхозом составил $2,69 \pm 0,69$ лет, а у неинвазированных детей – $2,31 \pm 0,39$ лет ($p=0,73$). По данным клинического интервьюирования у половины пациентов, страдающих БА как в сочетании с описторхозной инвазией, так и без таковой, регистрировались симптомы в течение последних 12 месяцев (53,33% и 52,94%, соответственно, $p=0,98$). При этом, наличие ночных симптомов (неконтролируемое течение болезни) регистрировалось у 41,18% больных БА без описторхоза и у 40% пациентов с гельминтной инвазией ($p=0,93$).

При обследовании больных АР установлено, что возраст манифестации данного заболевания в среднем составил $2,31 \pm 0,36$ лет в группе больных хроническим описторхозом и $2,71 \pm 0,26$ лет среди детей без паразитоза ($p=0,17$). Среди больных АР симптомы данного заболевания в течение 12 месяцев, предшествующих исследованию, наблюдались у 82,5% пациентов с хроническим описторхозом и 91,66% детей без гельминтной инвазии ($p=0,11$). Проявления АР в половине случаев сопровождалось раздражением глаз и слезотечением как у школьников с инвазией *Opisthorchis felineus*, так и у детей без гельминтоза.

Распространенность коморбидной патологии у детей в исследуемых группах

Заболевание Группы	Бронхиальная астма, n (%)	Аллергический ринит, n (%)	Атопический дерматит, n (%)
Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА	12 (9,37%)*	26 (20,31%)*	22 (17,19%)
Больные хроническим описторхозом без симптомов ПА	3 (2,75%)	14 (12,84%)	10 (9,17%)
Дети, не имеющие описторхоза с симптомами ПА	29 (9,32%)*,**	86 (27,65%)*,**	71 (22,83%)*,**
Дети, не имеющие описторхоза без симптомов ПА	5 (2,70%)	22 (11,89%)	19 (10,27%)

* – $p < 0,05$ при сравнении с показателями в группе детей, не имеющих описторхоза без симптомов ПА (χ^2 – Пирсона)

** – $p < 0,05$ при сравнении с показателями в группе больных хроническим описторхозом без симптомов ПА (χ^2 – Пирсона)

При обследовании больных АР установлено, что возраст манифестации данного заболевания в среднем составил $2,31 \pm 0,36$ лет в группе больных хроническим описторхозом и $2,71 \pm 0,26$ лет среди детей без паразитоза ($p = 0,17$). Среди больных АР симптомы данного заболевания в течение 12 месяцев, предшествующих исследованию, наблюдались у 82,5% пациентов с хроническим описторхозом и 91,66% детей без гельминтной инвазии ($p = 0,11$). Проявления АР в

половине случаев сопровождались раздражением глаз и слезотечением как у школьников с инвазией *Opisthorchis felineus*, так и у детей без гельминтоза.

Также проанализировано развитие аллергических симптомов при контакте с животными (собака, кошка, лошадь). Установлено, что такие симптомы, как кашель, одышка, затруднение дыхания, ринит, конъюнктивит при контакте с животными регистрировались с одинаковой частотой в исследуемых группах (таблица 8).

Таблица 8

Клинические проявления эпидермальной и пыльцевой сенсibilизации у детей в исследуемых группах по данным интервьюирования родителей/опекунов

Контакт/симптомы		Группы	Больные хроническим описторхозом n, %	Дети, не имеющие описторхоза n, %	p*
Контакт с животными (кошка, собака, лошадь)	Респираторные симптомы		8 (3,38)	20 (4,03)	0,664
	Ринит / конъюнктивит		13 (5,49)	43 (8,67)	0,09
Контакт с пылью деревьев, сорных трав, цветов	Респираторные симптомы		13 (5,49)	39 (7,86)	0,243
	Ринит / конъюнктивит		21 (8,86)	66 (13,31)	0,081

* p – достигнутый уровень значимости (χ^2 – Пирсона)

Проявления пыльцевой сенсibilизации регистрировались чаще, чем симптомы эпидермальной сенсibilизации как у больных хроническим описторхозом, так и у неинвазированных детей. При этом отмечено, что в группе больных хроническим описторхозом аллергические симптомы при контакте с

пыльцой деревьев, цветов, сорных трав отмечались реже, чем у детей, не имеющих описторхоза, однако, различия не достигают статистически значимых.

По результатам клинического интервьюирования средний возраст дебюта АД у больных хроническим описторхозом составил $2,02 \pm 0,35$ лет, а среди детей, не имеющих хронического описторхоза – $2,20 \pm 0,23$ лет ($p=0,45$). Обострение АД в течение 12 месяцев, предшествующих исследованию, отмечалось у 46,88% больных хроническим описторхозом и у 63,33% детей, не имеющих описторхозной инвазии ($p=0,1$).

4.1.3. Характеристика сопутствующей патологии

Анализ сопутствующей патологии продемонстрировал, что наиболее часто у представителей всех групп регистрировались заболевания ЛОР–органов (хронический тонзиллит – 10,91%, аденоидиты – 9,27%, синуситы – 5,18%; таблица 9). Ведущее место среди заболеваний ЖКТ занимал хронический гастродуоденит (9,54%), а также холециститы (7,5%), дискинезии желчевыводящих путей (5,86%), у двух человек диагностирована долихосигма.

Среди заболеваний мочевыводящей системы регистрировались пиелозктазия (1,22%) и нефроптоз I степени (0,95%), также у 0,27% обследованных отмечены аномалии развития почечных сосудов. По данным клинического обследования у 2,73% обследованных детей диагностировано ожирение. Патология сердечно-сосудистой системы отмечалась у 0,54% участников исследования и включала вегето-сосудистую дистонию ($n=3$) и нарушение ритма сердца ($n=1$).

Реже отмечены другие болезни, такие как сколиоз (1,22%), вителиго (0,68%). Распространенность указанной сопутствующей патологии регистрировалась у детей в изучаемых группах без статистических различий.

Распространенность сопутствующей патологии в исследуемых группах

Группы Заболевание	Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА, n (%)	Больные хроническим описторхозом без симптомов ПА, n (%)	Дети, не имеющие описторхоза с симптомами ПА, n (%)	Дети, не имеющие описторхоза без симптомов ПА, n (%)
Поражение ЛОР-органов	28 (21,85)	20 (18,34)	64 (20,57)	32 (17,27)
Поражение органов ЖКТ *	23 (17,96)	18 (16,51)	58 (18,64)	28 (15,13)
Патология урогениталь- ного тракта	3 (2,34)	4 (3,66)	7 (2,25)	4 (2,16)
Ожирение	4 (3,13)	5 (4,59)	8 (2,58)	3(1,62)
Сердечно- сосудистая патология	2 (1,56)	–	2 (0,64)	–
Другие	2 (1,56)	3 (2,75)	6(1,61)	3 (1,62)

Примечание: различия в группах статистически не значимы

* – исключен описторхоз и паразитарные инвазии

4.1.4. Анализ симптомов пищевой аллергии у детей с хроническим описторхозом и без гельминтной инвазии

По данным клинического интервьюирования, развитие симптомов ПА у обследованных обеих групп, как правило, отмечается в возрасте до трех лет. Так, средний возраст манифестации симптомов ПА статистически не различался у детей с гельминтной инвазией и без таковой и составил $2,34 \pm 0,33$ и $2,31 \pm 0,24$ лет, соответственно ($p=0,83$). Однако, необходимо учитывать ряд возрастных особенностей развития сенсibilизации к разным аллергенам. Основными продуктами, симптомы ПА к которым манифестируют в возрасте до трех лет, как

у больных хроническим описторхозом, так и у детей, не имеющих описторхозной инвазии, являлись: куриное яйцо (24,21% и 17,04%, соответственно, $p=0,08$), коровье молоко (24,21% и 30,22%, соответственно, $p=0,21$), рыба (17,18% и 21,86%, соответственно $p=0,26$). В возрасте старше 4-х лет наиболее часто отмечался дебют симптомов к арахису: у 17,18% больных хроническим описторхозом и у 20,9% детей, не имеющих описторхоза $p=0,37$), грецкому ореху (15,65% и 19,29%, соответственно, $p=0,89$), фундуку (17,18% и 17,68%, соответственно, $p=0,9$), яблоку (11,72% и 13,18% соответственно, $p=0,67$), персику (9,37% и 13,18%, соответственно $p=0,26$). Таким образом, анализ развития симптомов ПА отражает этапность формирования пищевой сенсibilизации. Так, независимо от наличия или отсутствия описторхоза, формирование сенсibilизации к животным аллергенам (коровьему молоку, куриному яйцу, рыбе) происходит преимущественно до трех лет, а сенсibilизация к растительным аллергенам развивается преимущественно в старшем возрасте [101, 163, 168, 167].

Период времени, в течение которого развивались симптомы ПА после употребления причинно-значимого аллергена, имел некоторые различия у пациентов исследуемых групп. Так, у детей без гельминтной инвазии симптомы ПА чаще развивались в течение первых 30 минут после употребления, в то время как в сочетании с хроническим описторхозом клинические проявления в большинстве случаев развивались позднее, однако различия не являлись статистически значимыми (таблица 10).

В группе детей, не имеющих описторхоза, равно как и у больных хроническим описторхозом, раннее развитие симптомов (0 – 30 минут) связано с употреблением рыбы (23,53% и 21,05%, соответственно, $p=0,82$), яблока (16,18% и 10,53% соответственно, $p=0,54$), куриного яйца (10,29% и 21,05% соответственно, $p=0,21$). Более позднее развитие симптомов (30 – 120 минут) связано с употреблением коровьего молока (32,08% и 25,00% соответственно, $p=0,51$), куриного яйца (15,09% и 14,29%, соответственно, $p=0,92$), а также томата (11,32% и 17,86% соответственно, $p=0,41$).

Время развития клинических проявлений ПА у детей исследуемых групп

Группы \ Время	Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА, %	Дети, не имеющие описторхоза с симптомами ПА, %	P*
0–30 минут	14,84	21,86	0,09
30 –120 минут	21,87	17,04	0,23
Более 120 минут	63,29	61,1	0,77

* p – достигнутый уровень значимости (χ^2 -Пирсона)

В качестве клинических проявлений у обследованных обеих групп наиболее часто регистрировались симптомы со стороны кожи. При этом, эритематозные высыпания статистически значимо чаще регистрировались у детей, не имеющих описторхоза, в то время как уртикарная сыпь, кожный зуд отмечались с одинаковой частотой в обеих группах. Также часто регистрировался оральный аллергический синдром, который включал в себя припухлость рта, губ, а также зуд, покалывание в ротовой полости (таблица 11).

Симптомы со стороны органов ЖКТ, напротив, чаще регистрировались у больных хроническим описторхозом, при этом, такие симптомы, как тошнота, вздутие кишечника, наблюдались статистически значимо чаще, по сравнению с детьми, не имеющими хронического описторхоза.

Возникновение указанных симптомов связано с поражением ЖКТ на фоне гельминтной инвазии. Респираторные проявления (одышка, визинги, кашель), а также симптомы ринита и конъюнктивита несколько чаще регистрировались у детей, не имеющих описторхоза, однако, различия не достигали статистически значимых.

Ряд жизнеугрожающих симптомов, таких как отек Квинке, бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, артериальная гипотензия, анафилактический шок вдвое чаще отмечались в группе обследованных, не имеющих описторхоза, по сравнению с детьми, больными описторхозом, однако,

различия при этом не достигали статистически значимых (5,46% и 9,32%, соответственно, $p=0,18$).

Таблица 11

Клинические проявления пищевой аллергии в исследуемых группах

Клинические проявления \ Группы	Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА, %	Дети, не имеющие описторхоза с симптомами ПА, %	p^*
Уртикарные высыпания	39,06	36,65	0,63
Зуд кожи	51,56	59,81	0,15
Эритематозные высыпания	47,65	65,27	0,01
Оральный аллергический синдром	25,78	32,47	0,16
Тошнота	31,25	15,11	0,01
Боли в желудке	38,28	30,86	0,13
Вздутие кишечника	20,31	8,68	0,01
Ринит / конъюнктивит	15,62	19,61	0,33
Респираторные проявления	9,37	11,89	0,44
Жизнеугрожающие состояния [#]	5,46	9,32	0,18

* p – достигнутый уровень значимости (χ^2 -Пирсона)

– жизнеугрожающие состояния: отек Квинке, синкопальные состояния, бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, артериальная гипотензия, анафилактический шок

Учитывая полиморфологичность клинических проявлений ПА, проанализированы варианты изолированного поражения органов–мишеней, а также сочетанного поражения нескольких органов и систем. Установлено, что изолированные проявления кожи регистрировались у 26,56% больных хроническим описторхозом и 27,97% детей, не имеющих инвазии ($p=0,76$). Поражение ЖКТ в изолированном виде регистрировалось менее, чем у четверти обследованных: у 18,75% больных хроническим описторхозом и 16,08%

неинвазированных детей ($p=0,49$). ОАС также редко отмечался в качестве единственного проявления ПА в исследуемых группах: 9,37% и 11,89%, соответственно ($p=0,44$). Поражение респираторного тракта, а также симптомы ринита, конъюнктивита в изолированном виде у обследованных пациентов не отмечались.

Более часто у обследованных регистрировалось сочетание нескольких клинических фенотипов ПА. Среди обследованных обеих групп кожные проявления в четверти случаев сопровождались развитием проявлений со стороны ЖКТ: у 27,33% больных хроническим описторхозом и у 22,51% неинвазированных детей ($p=0,2$). Сочетание с респираторной симптоматикой регистрировалось значительно реже: у 9,38% больных хроническим описторхозом и 10,29% пациентов без гельминтной инвазии ($p=0,42$). Установлено, что у 14,06% пациентов с хронической описторхозной инвазией и у 19,29% детей без таковой поражение кожи протекало в сочетании с ОАС ($p=0,19$). Отмечено также, что у 12,51% обследованных с описторхозом и у 15,11% детей без гельминтной инвазии развитие ОАС сопровождалось поражением гастроинтестинального тракта ($p=0,47$). Сочетание ОАС и риноконъюнктивальных симптомов регистрировалось у 7,81% больных хроническим описторхозом и 11,57% детей без описторхоза ($p=0,24$).

Помимо клинической симптоматики, связанной с непосредственным употреблением продукта в пищу, к проявлениям ПА также относят местную (кожную) реакцию на пищевые аллергены и ингаляционную – при вдыхании характерного запаха пищевого продукта.

Так, симптомы ПА, которые возникали при тактильном контакте с пищевым продуктом, отмечались у 3,91% обследованных с хроническим описторхозом и проявлялись в виде уртикарной сыпи. Подобная симптоматика связана с ПА к куриному яйцу и рыбе. Среди детей без гельминтной инвазии симптомы контактного дерматита отмечались у 5,79% обследованных и были вызваны контактом с рыбой, яйцом, морковью, яблоком.

В некоторых случаях отмечалось развитие симптомов ПА после ингаляции аллергена. Так, у 3,91% детей с хроническим описторхозом и 3,21% обследованных без гельминтной инвазии ($p=0,71$) регистрировались реакции в виде ринита, бронхоспазма, а также уртикарной сыпи при ингаляционном контакте с пищевым аллергеном; во всех случаях триггером ПА являлась рыба.

По данным клинического интервьюирования, 57,87% детей, не имеющих описторхозной инвазии, и 48,43% ($p=0,07$) больных хроническим описторхозом отмечали использование различных лекарственных средств при развитии симптомов ПА. Необходимость в неотложной терапии в анамнезе возникала у 29,58% неинвазированных детей и 21,09% больных хроническим описторхозом ($p=0,09$). Введение адреналина отмечалось у одного школьника из группы больных хроническим описторхозом и трех детей, не имеющих описторхоза. При этом, у неинвазированных детей в 2 раза чаще возникала необходимость в ингаляции кислорода, чем у обследованных с хроническим описторхозом (9,64% против 4,68%, $p=0,08$). Применение антигистаминных препаратов по поводу симптомов аллергии отмечено у 88,74% детей, не имеющих хронического описторхоза, и у 85,93% больных описторхозом ($p=0,41$). Глюкокортикостероидные препараты использовались только у 28,29% и 21,87% обследованных, соответственно ($p=0,16$).

Проведено исследование распространенности и характера клинических проявлений ПА в зависимости от интенсивности хронической описторхозной инвазии. Так, наличие симптомов ПА отмечалось у 52,76%, 56,86% и 54,24% больных описторхозом высокой, средней и низкой интенсивности инвазии, соответственно (таблица 12).

Проведенный анализ не выявил различий характера клинического течения в зависимости от интенсивности гельминтной инвазии. Установлено, что распространенность различных симптомов статистически значимо не различалась у пациентов с различной степенью инвазии.

Клинические проявления ПА в зависимости от интенсивности хронической
описторхозной инвазии

	Дети, не имеющие описторхозной инвазии,%	Больные хроническим описторхозом		
		Высокая степень инвазии,%	Средняя степень инвазии,%	Низкая степень инвазии,%
Уртикарные высыпания	36,65	34,32	41,37	46,87
Зуд кожи	59,81	47,76	58,62	53,13
Эритематозные высыпания	65,27	49,25*	44,82*	46,87*
ОАС [#]	32,47	22,38	31,03	28,13
Тошнота	15,11	28,35*	31,03*	37,5*
Боли в желудке	30,86	38,81	134,48	40,62
Вздутие кишечника	8,68	17,91*	24,14*	21,87*
Ринит / конъюнктивит	19,61	14,92	13,79	18,75
Респираторные проявления	11,89	8,95	6,89	12,5
Жизнеугрожаю– щие состояния [#]	9,32	5,97	0	9,38

* $p < 0,05$ при сравнении с показателями в группе детей, не имеющих описторхоза
(χ^2 -Пирсона)

– оральный аллергический синдром

– жизнеугрожающие состояния: отек Квинке, синкопальные состояния,
бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, артериальная гипотензия,
анафилактический шок

Таким образом, в группе больных хроническим описторхозом отмечен ряд клинических особенностей течения ПА. Так, на фоне хронической описторхозной инвазии отмечается более частое развитие поражения желудочно–кишечного тракта, которое характеризуется симптомами тошноты, вздутия кишечника. У больных хроническим описторхозом реже отмечается развитие эритематозных высыпаний. Интенсивность описторхозной инвазии не оказывает влияния на распространенность и характер клинических проявлений. В анамнезе детей, не имеющих хронического описторхоза, чаще регистрируются жизнеугрожающие реакции и связанные с ними медицинские вмешательства: ингаляция кислорода, использование адреналина, однако различия не достигают статистической значимости.

4.1.5. Формирование толерантности к пищевым аллергенам куриного яйца и коровьего молока у больных хроническим описторхозом

В контексте исследования влияния описторхозной инвазии на формирование аллергической патологии является актуальным изучение особенностей естественного течения пищевой сенсибилизации. Особенностью естественного течения ПА к некоторым аллергенам, в частности, к куриному яйцу, является постепенное формирование оральной толерантности в первые 5–7 лет жизни [101, 167]. При аллергии к белкам коровьего молока у 80% пациентов толерантность развивается к 3–4 годам [179, 101]. Исследование формирования пищевой толерантности оптимально изучать в ходе проспективного когортного исследования. Нами предпринята попытка ретроградного анализа особенностей естественного течения и формирования толерантности к пищевым аллергенам в зависимости от наличия описторхоза в рамках одномоментного эпидемиологического исследования. С этой целью использовались разделы вопросника, позволяющие оценить возраст ребенка, в котором установлен дебют заболевания и отмечаются последние симптомы ПА.

Так, согласно результатам клинического интервьюирования, 32,47% (n=101) родителей детей, не имевших описторхоза, отмечали симптомы ПА к куриному яйцу в анамнезе, в то время как в группе больных хроническим описторхозом данный показатель составил 26,56% (n=34, p=0,22). Среди больных описторхозом развитие клинических проявлений, связанных с употреблением куриного яйца, отмечалось у 47,05% девочек и 52,94% мальчиков; в группе детей, не имеющих описторхоза, данное соотношение составило 37,62% и 62,38%, соответственно (p=0,35). Средний возраст манифестации симптомов был сопоставим в обеих группах и составил $1,88 \pm 0,33$ лет для детей, не имеющих описторхозной инвазии, и $2,22 \pm 0,33$ лет для больных хроническим описторхозом (p=0,84). По данным клинического интервьюирования 44,55% неинвазированных детей и 52,94% больных хроническим описторхозом длительно соблюдали строгую элиминационную диету в отношении куриного яйца (p=0,39).

Среди проявлений аллергии к белкам куриного яйца преобладали симптомы со стороны кожи – эритематозные высыпания, кожный зуд, уртикарные элементы (у 80,19 % детей, не имеющих описторхоза, и у 76,47% больных хроническим описторхозом; p=0,69). Несколько реже регистрировались симптомы поражения ЖКТ, включавшие рвоту, гастрит, диарею, вздутие кишечника (у 23,76% и 29,41% пациентов обследованных групп соответственно; p=0,51). Локальные проявления, такие как ОАС, ринит, конъюнктивит не являлись характерными симптомами ПА к куриному яйцу и встречались менее, чем у трети обследованных. Развитие бронхообструктивного синдрома, связанного с употреблением куриного яйца, отмечалось у одного обследованного в группе больных описторхозом и у двух детей, не имеющих описторхоза.

Возникновение симптомов отмечалось, как правило, при употреблении куриных яиц в пищу, в двух случаях у детей, не имевших описторхоза, регистрировались кожные проявления при контакте с сырым яйцом.

Согласно результатам клинического интервьюирования, у 47,05% больных хроническим описторхозом отмечено развитие оральной толерантности (отсутствие симптомов в течение более чем двух лет), в то время, как у детей, не

имеющих инвазии, данный показатель составил только 18,81% (OR=4,30, 95% CI 1,73–10,81 $p=0,01$). При этом, соблюдение элиминационной диеты в анамнезе отмечало сопоставимое число больных обеих групп: 43,75% пациентов с хроническим описторхозом и 57,89% неинвазированных детей, достигших толерантности ($p=0,4$).

Наличие симптомов ПА к коровьему молоку в анамнезе по данным клинического интервьюирования отмечено у 50,80% ($n=158$) детей, не имеющих описторхоза, и 47,66% ($n=61$, $p=0,54$) больных хроническим описторхозом. В группе неинвазированных детей 48,1% составили мальчики и 51,89% – девочки. Среди больных хроническим описторхозом также наблюдалось сопоставимое соотношение мальчиков и девочек: 45,9% и 54,1%, соответственно ($p=0,77$). Средний возраст манифестации симптомов у детей, не имеющих описторхоза, составил $1,39\pm 0,16$ лет, в то время как у больных описторхозом – $1,55\pm 0,28$ лет ($p=0,61$). Согласно результатам клинического интервьюирования 46,2% неинвазированных детей и 55,74% больных хроническим описторхозом длительно соблюдали строгую элиминационную диету в отношении коровьего молока ($p=0,21$).

В качестве проявлений аллергии к белкам коровьего молока наиболее часто регистрировались симптомы со стороны кожи, включавшие уртикарные и эритематозные высыпания, кожный зуд: у 85,44% детей, не имеющих описторхоза, и у 80,32% больных хроническим описторхозом ($p=0,35$).

Симптомы поражения ЖКТ (рвота, гастрит, диарея, вздутие кишечника) отмечались реже: у 24,05% и 21,31% неинвазированных детей и больных описторхозом, соответственно ($p=0,66$). Респираторные проявления не являлись характерными проявлениями ПА к коровьему молоку и регистрировались только у 13,92% школьников без описторхозной инвазии и 11,47% детей с паразитозом ($p=0,63$). Такие проявления, как ОАС, ринит, конъюнктивит встречались менее, чем у трети обследованных.

В соответствии с результатами проведенного клинического интервьюирования развитие оральной толерантности к коровьему молоку,

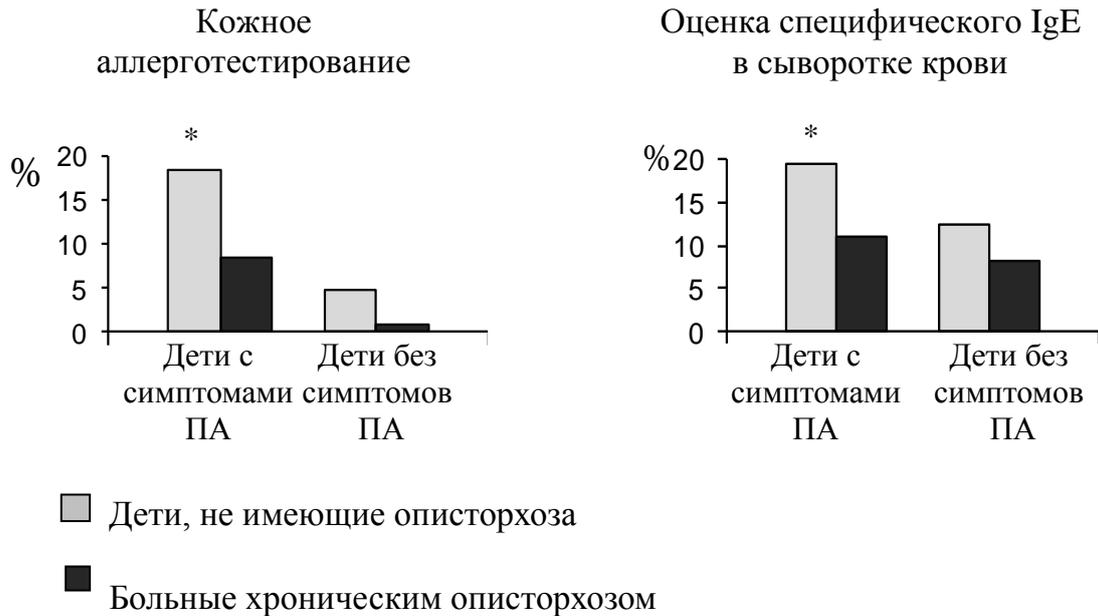
которое выражалось в отсутствии симптомов в течение более, чем двух лет отмечено у большинства обследованных: у 66,45% детей, не имеющих описторхоза и 77,05% больных хроническим описторхозом (OR=1,69; 95% CI 0,82–3,55; $p=0,12$). При этом среди пациентов с пищевой толерантностью соблюдение строгой элиминационной диеты отмечали 50,47% обследованных, не имеющих описторхозной инвазии и 53,19% больных описторхозом ($p=0,75$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о более высокой вероятности формирования пищевой толерантности к белкам куриного яйца к 7 – 10 годам у больных хроническим описторхозом. Развитие пищевой толерантности к коровьему молоку наблюдается с одинаковой частотой у больных описторхозом и неинвазированных лиц. Очевидно, это связано с формированием толерантности к данному продукту в раннем возрасте до инвазирования возбудителем описторхоза.

4.2. Исследование влияния инвазии *Opisthorchis felineus* на формирование сенсibilизации к пищевым аллергенам у детей исследуемых групп

Всем детям, принявшим участие в исследовании, проведено кожное аллeрготестирование и оценка уровня специфического IgE к пищевым аллeргенам в сыворотке крови. Наличие пищевой сенсibilизации определялось в случае положительного результата кожного прик-тестирования к любому из исследуемых экстрактов пищевых аллeргенов, либо при наличии диагностического уровня специфического IgE в сыворотке крови (рисунок 10).

Согласно полученным данным, наличие пищевой сенсibilизации как по результатам КПТ, так и по результатам оценки уровня специфического IgE в сыворотке крови, наиболее часто регистрировалось у детей с симптомами ПА. При этом, у детей с симптомами ПА, не имеющих хронической описторхозной инвазии, наличие пищевой сенсibilизации диагностировалось статистически значимо чаще, чем у больных хроническим описторхозом и обследованных без симптомов ПА.



* – $p < 0,05$ при сравнении с показателями в других группах (χ^2 Пирсона)

Рисунок 10. Распространенность пищевой сенсibilизации в исследуемых группах по данным КПТ и по результатам оценки уровня специфического IgE в сыворотке крови

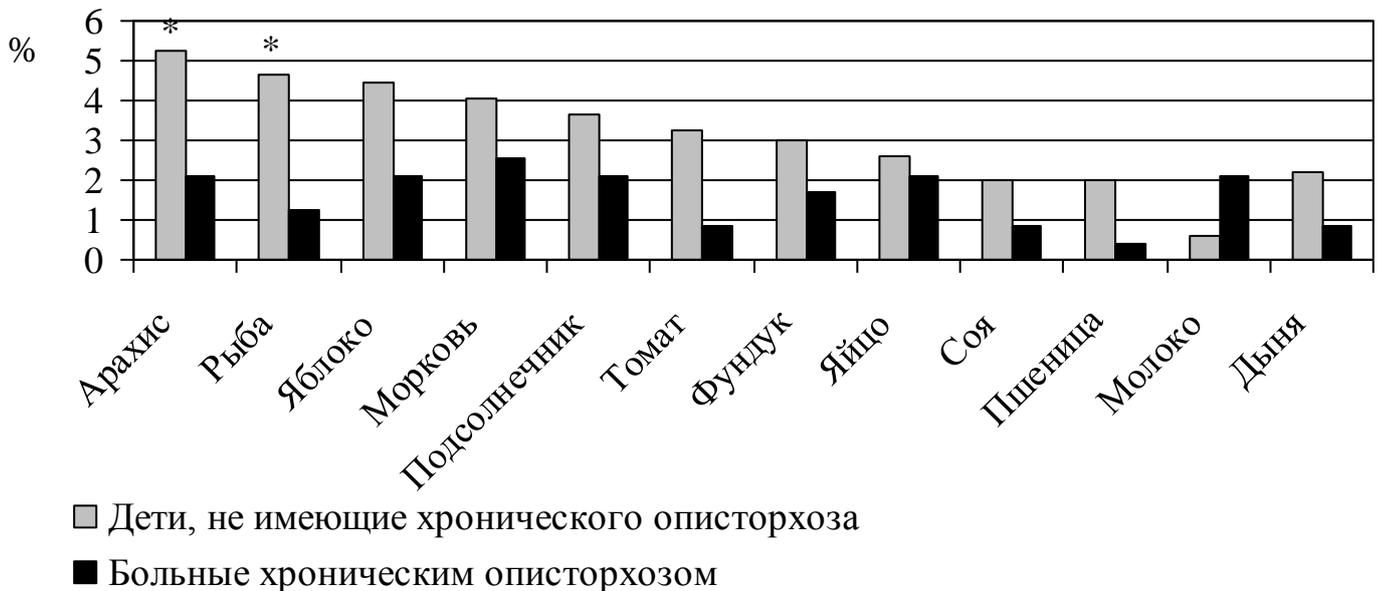
Также заслуживает внимания тот факт, что наличие пищевой сенсibilизации наблюдается у обследованных, не имеющих симптомов ПА. При этом, распространенность латентной пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови у детей, не имеющих описторхоза, сопоставима с аналогичным показателем в группе больных хроническим описторхозом с симптомами ПА (12,43% и 10,94% соответственно, $p=0,68$).

В этой связи дальнейший анализ вклада описторхозной инвазии в развитие пищевой сенсibilизации проведен в двух группах школьников: у больных хроническим описторхозом и у детей, не имеющих описторхоза, независимо от наличия симптомов ПА.

4.2.1 Исследование пищевой сенсibilизации в группах детей, больных хроническим описторхозом, и без гельминтной инвазии методом кожного аллeрготестирования

В ходе исследования проведено изучение сенсibilизации к пищевым и аэроаллергенам в двух группах: больных хроническим описторхозом (n=237) и у детей, не имеющих гельминтной инвазии (n=496). Всем детям, принявшим участие в исследовании, проведено кожное аллeрготестирование. Наличие пищевой сенсibilизации определялось в случае положительного результата кожного прик-тестирования к любому из исследуемых экстрактов пищевых аллeргенов. Согласно полученным данным, пищевая сенсibilизация отмечалась у 5,06% больных, имеющих инвазию *Opisthorchis felinus*, в то время как в группе школьников без гельминтоза, данный показатель составил 13,71% (OR=0,34; 95% CI 0,17–0,65; p=0,01).

При анализе структуры пищевой сенсibilизации установлено, что в группе детей без хронического описторхоза ведущими аллeргенами являются арахис, рыба, яблоко, морковь (рисунок 11).



* – p<0,05 при сравнении показателей в исследуемых группах (χ^2 Пирсона)

Рисунок 11. Структура пищевой сенсibilизации у детей в исследуемых группах по результатам кожных прик-тестов

При этом, сенсibilизация к арахису и рыбе регистрируется достоверно чаще, чем в группе пациентов с хроническим описторхозом. Среди школьников с хронической описторхозной инвазией положительные результаты кожных аллергопроб регистрировались преимущественно к моркови, молоку, яйцу, яблоку, арахису. Сравнение среднего диаметра папулы в ходе прик-тестирования с различными пищевыми аллергенами продемонстрировало также более низкие показатели среднего размера папулы у школьников, инвазированных *Opisthorchis felineus* (таблица 13). Однако, статистически значимые различия отмечены только при сравнении результатов кожных проб с аллергеном моркови. Также у больных хроническим описторхозом отмечена более низкая кожная реактивность к гистамину.

Таблица 13

Сравнение среднего диаметра папулы при кожном аллерготестировании у пациентов исследуемых групп

Группы Аллергены	Средний диаметр папулы, мм		p*
	Дети, не имеющие хронического описторхоза	Больные хроническим описторхозом	
Гистамин	3,74±0,06	3,53±0,07	0,034
Морковь	3,10±0,24	1,58±0,20	0,005
Молоко	2,5±0	1,80±0,12	0,095
Яйцо	3,23±1,66	2,80±0,41	0,690
Рыба	4,41±0,62	5,33±2,24	0,628
Арахис	3,26±0,33	2,60±0,60	0,342
Фундук	3,40±0,30	2,87±0,87	0,245
Соя	3,25±0,36	2,25±0,25	0,126
Подсолнечник	2,47±0,32	2,80±1,31	0,466
Яблоко	2,82±0,26	1,80±0,46	0,061
Томат	2,38±0,24	2,0±0	0,536

*p – достигнутый уровень значимости (U-критерий Манна-Уитни)

Таким образом, наличие хронической описторхозной инвазии ассоциировано с меньшим риском развития сенсibilизации по результатам КПТ, при этом у инвазированных детей отмечается снижение кожной реактивности к гистамину.

В ходе исследования проанализирована распространенность пищевой сенсibilизации у больных с различной интенсивностью описторхозной инвазии. Согласно полученным данным, по мере повышения интенсивности инвазии количество пациентов с сенсibilизацией уменьшается (таблица 14). Наиболее низкая частота позитивных результатов КПТ зарегистрирована у больных с высокой интенсивностью инвазии в отличие от пациентов со средней и низкой степенью зараженности. В ходе регрессионного анализа установлена статистически значимая отрицательная ассоциация высокой интенсивности описторхозной инвазии и пищевой сенсibilизации по данным КПТ.

Таблица 14

Распространенность пищевой сенсibilизации по результатам КПТ, в зависимости от интенсивности инвазии *Opisthorchis felinus*

Интенсивность инвазии	Распространенность пищевой сенсibilизации n, %	B	b	OR	95% CI	p
Отсутствие инвазии (n=496)	68(13,71%)	референтная группа				
Низкая (n=59)	3(5,08%)	-1,08	0,61	0,37	0,10–1,11	0,07
Средняя (n=51)	5(9,80%)	-0,38	0,48	0,68	0,26–1,78	0,43
Высокая (n=127)	4(3,15%)	-1,58	0,52	0,21	0,07–0,57	0,01

Логистический регрессионный анализ:

B – коэффициент регрессионного уравнения

b – стандартная ошибка коэффициента B

OR – отношение шансов

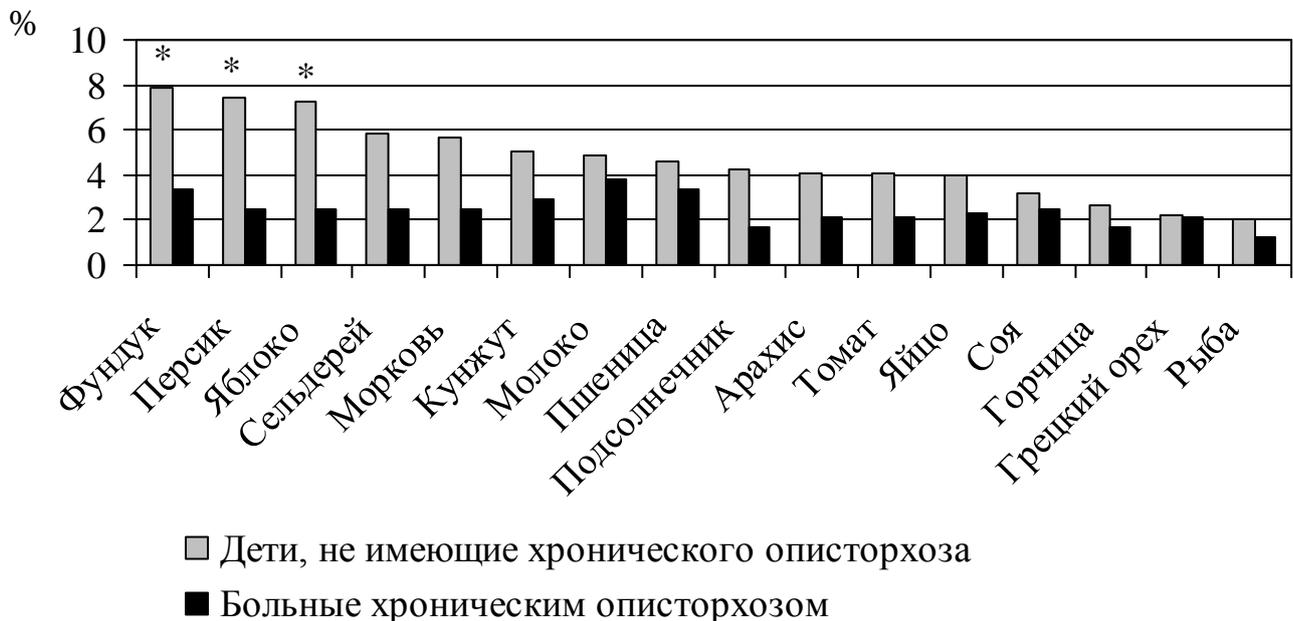
95% CI – доверительный интервал

p – достигнутый уровень значимости

4.2.2. Оценка уровня специфического IgE к пищевым аллергенам в сыворотке крови у больных хроническим описторхозом и детей, не имеющих гельминтной инвазии

По результатам оценки содержания специфического IgE в сыворотке крови, наличие сенсibilизации к какому-либо из исследуемых пищевых аллергенов диагностировано у 9,7% школьников, страдающих хроническим описторхозом, и у 16,94% неинвазированных детей (OR=0,53; 95% CI 0,31 – 0,88; p=0,01).

Установлено, что структура пищевой сенсibilизации в исследуемых группах также имеет некоторые различия (рисунок 12). Так, в группе детей без гельминтной инвазии в качестве ведущих зарегистрированы следующие пищевые аллергены: фундук, персик, яблоко, сельдерей. Однако, среди пациентов, страдающих гельминтной инвазией, наличие сенсibilизации к аллергенам фундука, яблока, персика отмечалось статистически значимо реже и наиболее часто регистрировался диагностический уровень IgE к аллергенам молока, пшеницы, фундука, кунжута.



*– p<0,05 при сравнении показателей в исследуемых группах (χ^2 – Пирсона)

Рисунок 12. Наличие пищевой сенсibilизации у детей в исследуемых группах по результатам оценки уровня специфического IgE

Средний уровень содержания специфического IgE к пищевым продуктам у школьников, страдающих описторхозом, ниже, чем у детей без гельминтной инвазии, при этом, статистически значимые различия отмечены при сравнении показателей сенсibilизации к наиболее распространенным аллергенам: фундуку, грецкому ореху, яблоку, персику (таблица 15).

Таблица 15

Средний уровень содержания специфического IgE к пищевым аллергенам в сыворотке крови у пациентов исследуемых групп

Группы Аллергены	Средний уровень IgE (кЕдА/л)		p*
	Больные хроническим описторхозом	Больные, не имеющие описторхоза	
Фундук	11,97±7,62	27,65±5,04	0,039
Яблоко	0,59±0,21	4,85±1,19	0,004
Персик	0,74±0,28	3,80±1,13	0,002
Креветки	0,45±0,19	1,00±0,65	0,039
Грецкий орех	0,65±0,36	2,12±1,30	0,040
Куриное яйцо	0,43±0,14	1,85±0,70	0,505
Молоко	0,87±0,31	0,79±0,24	0,643
Рыба	0,93±0,81	2,52±1,18	0,847
Арахис	0,52±0,19	2,24±1,29	0,816
Сельдерей	1,86±0,73	4,43±2,07	0,943
Киви	0,54±0,14	1,55±0,50	0,618
Горчица	0,28±0,10	0,47±0,13	0,524
Кунжут	1,56±0,37	2,35±0,68	0,640
Соя	0,55±0,25	0,87±0,39	0,940
Пшеница	0,55±0,16	0,84±0,36	0,521
Греча	1,07±0,39	1,84±1,11	0,235
Морковь	1,70±0,82	3,38±1,08	0,812
Томат	1,15±0,58	1,19±0,39	0,520
Банан	0,59±0,11	0,92±0,26	0,728
Чечевица	0,50±0,14	0,88±0,33	0,631
Подсолнечник	0,38±0,13	1,61±0,73	0,115

* p – достигнутый уровень значимости (U-критерий Манна-Уитни)

Таким образом, по результатам оценки содержания специфического IgE в сыворотке крови, хроническая гельминтная инвазия ассоциирована с меньшим

риском развития сенсibilизации к пищевым аллергенам. Наряду с более низким количеством пациентов, имеющих сенсibilизацию к пищевым аллергенам, у пациентов с хроническим описторхозом отмечается меньшая интенсивность синтеза специфического IgE к наиболее распространенным аллергенам.

В ходе исследования проанализирована подверженность развитию пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови в зависимости от интенсивности описторхозной инвазии. Согласно полученным данным, по мере повышения интенсивности инвазии количество пациентов с сенсibilизацией уменьшается. Так, по результатам оценки уровня специфического IgE в сыворотке крови, наиболее высокая частота пищевой сенсibilизации отмечена у детей с низкой интенсивностью инвазии *Opisthorchis felineus* (таблица 16).

Таблица 16

Распространенность пищевой сенсibilизации по результатам оценки уровня специфического IgE сыворотки крови в зависимости от интенсивности инвазии

Opisthorchis felineus

Интенсивность инвазии	Распространенность пищевой сенсibilизации n, %	B	b	OR	95% CI	p
Отсутствие инвазии (n=496)	84(16,94%)	референтная группа				
Низкая (n=59)	9 (15,25%)	-0,12	0,38	0,88	0,42 – 1,86	0,74
Средняя (n=51)	3(5,88%)	-1,18	0,61	0,31	0,09 – 1,07	0,05
Высокая (n=127)	11(8,66%)	-0,76	0,33	0,46	0,24 – 0,91	0,02

Логистический регрессионный анализ:

B – коэффициент регрессионного уравнения

b – стандартная ошибка коэффициента B

OR – отношение шансов

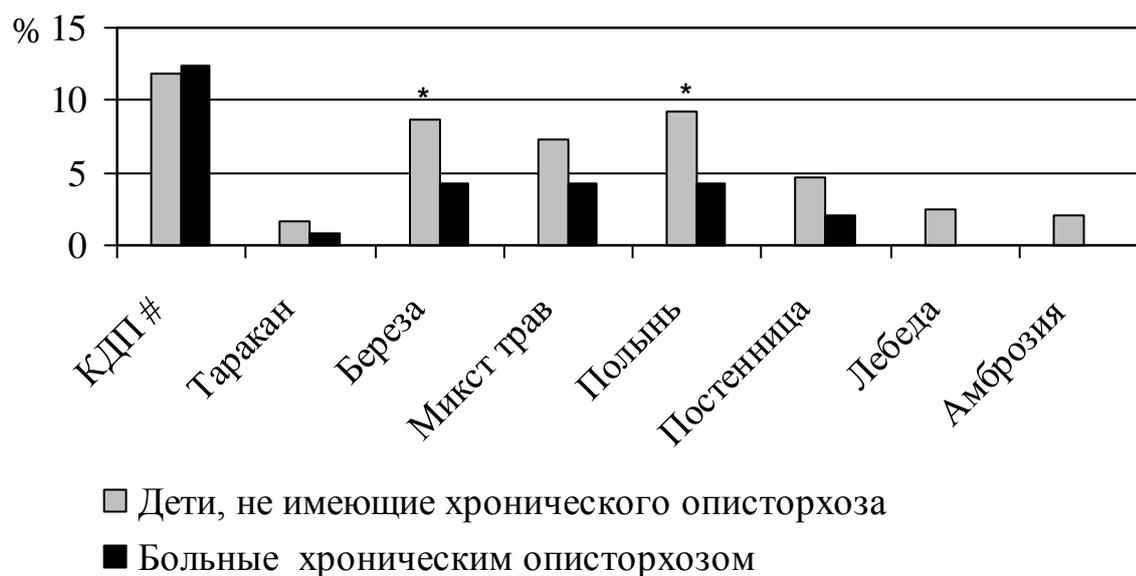
95% CI – доверительный интервал

p – достигнутый уровень значимости

Напротив, данный показатель был наименьшим в группе детей, имеющих высокую степень гельминтизации. Регрессионный анализ выявил негативную ассоциацию высокой интенсивности описторхозной инвазии и пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови.

4.2.3. Исследование сенсibilизации к аэроаллергенам

Пациентам исследуемых групп проведен анализ сенсibilизации к наиболее распространенным бытовым и пыльцевым аллергенам: клещу домашней пыли (КДП), аллергену таракана, а также к пыльце березы, сорных трав, полыни, амброзии, постеннице, лебеде (рисунок 13).



КДП – микст клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*

* – $p < 0,05$ при сравнении показателей в исследуемых группах (χ^2 - Пирсона)

Рисунок 13. Распространенность сенсibilизации к аэроаллергенам у пациентов исследуемых групп по результатам определения специфического IgE в сыворотке крови и результатам кожного алерготестирования

Наличие сенсibilизации к указанным аллергенам отмечалось в случае положительных результатов кожных аллергопроб и / или определения диагностического уровня специфического IgE в сыворотке крови. Согласно полученным результатам, сенсibilизация к аллергенам, не связанным с развитием ПА (клещ домашней пыли, таракан) развивалась с одинаковой частотой в исследуемых группах.

С другой стороны, показатели сенсibilизации к пыльцевым аллергенам имеют различия в исследуемых группах. Так, в группе детей без гельминтной инвазии статистически значимо чаще регистрируется сенсibilизация к аллергенам, связанным с развитием перекрестной реактивности к пищевым продуктам, в сравнении с больными описторхозом: к аллергену березы ($p=0,008$), к аллергену полыни ($p=0,016$).

Сенсibilизация к аллергенам, которые также вовлечены в процесс формирования перекрестной пищевой реактивности (микст сорных трав, постенница), отмечается реже у детей, страдающих хроническим описторхозом, однако различия не достигают статистической значимости. Таким образом, у детей на фоне хронической описторхозной инвазии значительно реже формируется пыльцевая сенсibilизация к пыльце березе и полыни. В связи с тем, что указанные аллергены, в особенности, пыльца березы, играют ключевую роль в формировании перекрестной реактивности с пищевыми аллергенами растительного происхождения (яблоко, персик, арахис, фундук), сенсibilизация к ним у лиц с описторхозом, проживающих в Томской области, регистрируется реже.

4.2.4. Оценка уровня общего IgE сыворотки у детей исследуемых групп

Проанализировано содержание общего IgE сыворотки у обследованных детей в зависимости от наличия пищевой сенсibilизации и хронической описторхозной инвазии. Так, наиболее низкое содержание общего IgE отмечалось у детей, не имеющих пищевой сенсibilизации и описторхозной инвазии (таблица

17). Напротив, по мере повышения интенсивности инвазии увеличивался средний уровень общего IgE в сыворотке крови. При этом, у пациентов с высокой и средней интенсивностью описторхозной инвазии, не имеющих пищевой сенсibilизации, данный показатель статистически значимо выше, чем у детей без описторхоза.

Таблица 17

Средний уровень общего IgE у детей с различной интенсивностью хронической инвазии *Opisthorchis felinus* в зависимости от наличия пищевой сенсibilизации[#]

Инвазия <i>Opisthorchis felinus</i>	Пищевая сенсibilизация	Отсутствие пищевой сенсibilизации		Наличие пищевой сенсibilизации	
		п	Средний уровень общего IgE, кЕдА/л	п	Средний уровень общего IgE, кЕдА/л
Нет инвазии		412	92,02±7,21	84	606,65±135,35**
Низкая интенсивность		50	133,12±39,27	9	974,98±264,68**
Средняя интенсивность		48	136,52±26,57*	3	861,73±188,51**
Высокая интенсивность		116	141,63±19,45*	11	1189,62±508,98**

– наличие пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови

* $p < 0,05$ – при сравнении с показателем у детей, не имеющих описторхозной инвазии и пищевой сенсibilизации (U-критерий Манна-Уитни)

** $p < 0,05$ – при попарном сравнении с соответствующим показателем в группе детей без пищевой сенсibilизации (U-критерий Манна-Уитни)

Аналогичная тенденция прослеживалась у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию. Наиболее высокие средние показатели регистрировались у больных, имеющих высокую интенсивность описторхозной инвазии, а наименьшие – у неинвазированных больных, однако, достоверных различий при использовании статистического критерия Манна-Уитни не получено, что связано с малочисленностью групп.

Результаты многофакторного линейного регрессионного анализа продемонстрировали, что повышение уровня общего IgE сыворотки у детей с пищевой сенсibilизацией имеет статистически значимую линейную зависимость от интенсивности хронической описторхозной инвазии (таблица 18).

Таблица 18

Исследование зависимости содержания общего IgE в сыворотке крови от интенсивности описторхозной инвазии в сочетании с пищевой сенсibilизацией (многофакторный анализ)

Коэффициенты Факторы	R	F	B	b	95% CI	P
Хронический описторхоз	0,39	67,10	2,83	1,27	0,35–5,32	0,02
Наличие пищевой сенсibilизации [#]			607,49	52,72	503,99–710,99	0,01

– наличие пищевой сенсibilизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови

R – коэффициент детерминации

F – критерий Фишера

B – коэффициент регрессионного уравнения

b – стандартная ошибка коэффициента B

95% CI – доверительный интервал для коэффициента B

p – достигнутый уровень значимости

В группе больных хроническим описторхозом статистически значимо более высокий уровень общего IgE отмечается у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию в сравнении с детьми без пищевой сенсibilизации (таблица 17). Однако, ранее было показано, что на фоне хронической описторхозной инвазии регистрируются подавление специфической сенсibilизации, что выражается в более редком её формировании и более низком содержании специфических IgE к пищевым аллергенам. Очевидно, повышение общего IgE происходит не за счет специфической сенсibilизации, а по причине повышения продукции поликлональных антител и IgE к гельминту.

В рамках данного исследования предпринята попытка установить наиболее чувствительный и специфичный диагностический уровень общего IgE,

соответствующий наличию специфической сенсibilизации к пищевым аллергенам. Так, у детей, не имеющих описторхоза, содержание общего IgE в сыворотке крови более 100 кЕдА/л максимально чувствительно отражает наличие пищевой сенсibilизации (таблица 19). При более высоких значениях общего IgE диагностическая чувствительность анализа резко снижается, а специфичность, напротив – повышается.

В группе больных хроническим описторхозом наибольшая диагностическая чувствительность для верификации специфической сенсibilизации отмечается при уровне общего IgE в сыворотке крови >100 кЕдА/л (78,26%) и >200 кЕдА/л (79,43%), однако соответствующие им показатели диагностической специфичности невысоки: 64,01% и 79,43%.

Таблица 19

Исследование диагностической специфичности и чувствительности уровня общего IgE для верификации специфической сенсibilизации

Показатели в группах Уровень общего IgE (кЕдА/л)	Больные хроническим описторхозом				Дети, не имеющие описторхоза			
	ДЧ	ДС	ОП+	ОП–	ДЧ	ДС	ОП+	ОП–
>100	78,26	64,01	2,17	0,34	77,38	74,02	2,98	0,31
>200	79,43	79,43	3,86	0,26	59,52	88,59	5,22	0,46
>300	73,91	87,85	6,08	0,30	48,80	93,93	8,04	0,55
>400	60,86	92,05	7,66	0,43	41,66	96,35	11,41	0,61
>500	56,52	93,92	9,30	0,46	36,90	97,81	16,85	0,65

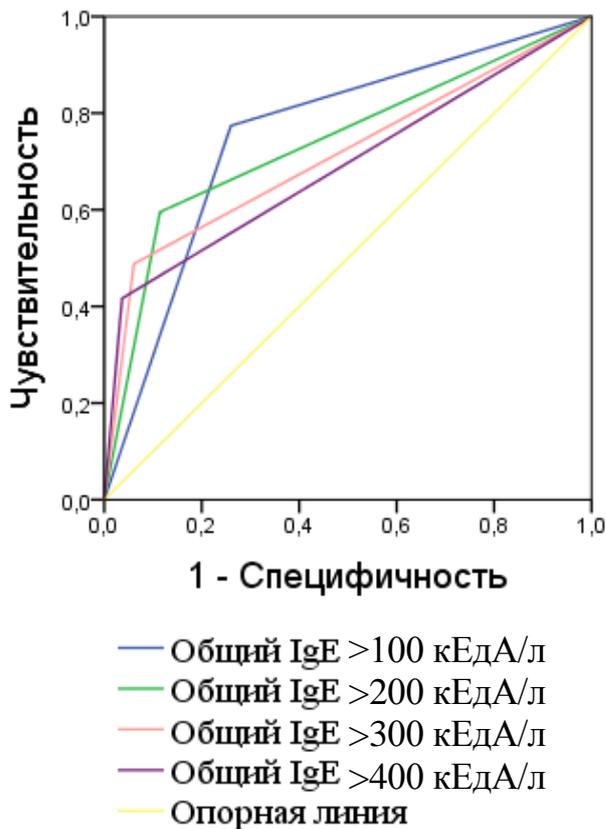
ДЧ – диагностическая чувствительность

ДС – диагностическая специфичность

ОП+ – отношение правдоподобия для положительного результата

ОП – отношение правдоподобия для отрицательного результата

Для определения порогового значения уровня общего IgE, обладающего оптимальным соотношением диагностической специфичности и чувствительности проведен ROC-анализ [17]. В ходе данного вида анализа для выбранных пороговых значений общего IgE (>100 кЕдА/л, >200 кЕдА/л, >300 кЕдА/л, >400 кЕдА/л) построены кривые соотношения чувствительности и специфичности (рисунок 14, рисунок 15). Также, для каждой из построенных кривых производили расчет показателя AUC (area under curve – площадь под кривой), более высокое значение которого отражает более выгодное соотношение чувствительности и специфичности.

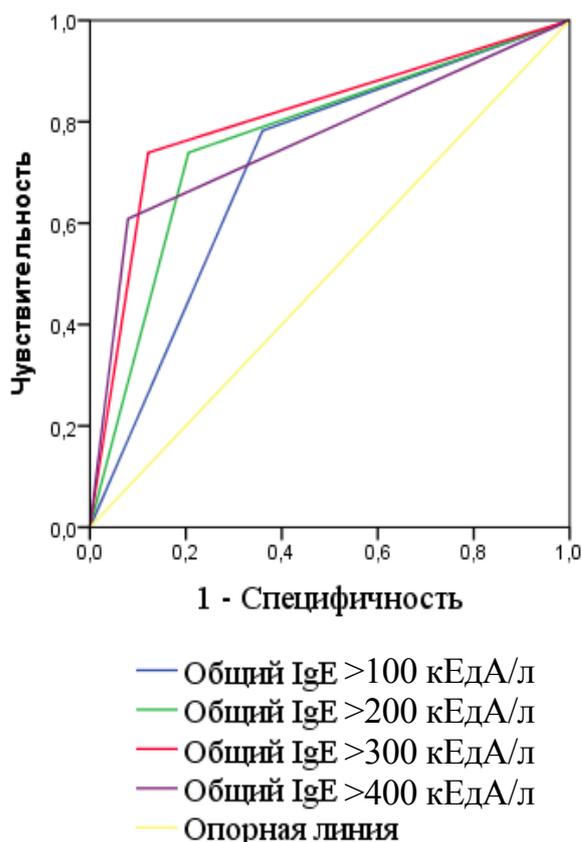


Уровень общего IgE	AUC	Ошибка
>100 кЕдА/л	0,757	0,029
>200 кЕдА/л	0,741	0,034
>300 кЕдА/л	0,714	0,036
>400 кЕдА/л	0,690	0,037

Рисунок 14. ROC-кривые и значения показателя AUC для различных пороговых значений общего IgE в сыворотке крови в группе детей, не имеющих описторхоза

В группе детей, не имеющих описторхоза, максимальное значение AUC определялось при уровне общего IgE сыворотки более 100 кЕдА/л. В группе

больных хроническим описторхозом наиболее высокое значение AUC отмечено при содержании общего IgE в сыворотке крови более 300 кЕдА/л. Таким образом, проведенный анализ позволяет использовать полученные пороговые значения в качестве маркеров наличия специфической сенсибилизации в соответствующих группах пациентов.



Уровень общего IgE	AUC	Ошибка
>100 кЕдА/л	0,711	0,054
>200 кЕдА/л	0,767	0,055
>300 кЕдА/л	0,809	0,055
>400 кЕдА/л	0,765	0,063

Рисунок 15. ROC-кривые и значения показателя AUC для различных пороговых значений общего IgE в сыворотке крови в группе больных хроническим описторхозом

4.3. Исследование факторов риска формирования пищевой сенсибилизации

В настоящем исследовании проанализирован вклад внешнесредовых и наследственных факторов в формирование пищевой сенсибилизации у детей Томской области, больных хроническим описторхозом и без инвазии. В ходе

регрессионного анализа установлено, что для неинвазированных детей наличие аллергических заболеваний у родителей, в частности у отца, является фактором риска формирования пищевой сенсибилизации у ребенка (таблица 20). Однако, при наличии наследственной отягощенности аллергологического анамнеза у больных хроническим описторхозом развитие пищевой сенсибилизации отмечается статистически значимо реже по сравнению с детьми, не имеющими гельминтной инвазии (10,31% и 26,36% соответственно, $p=0,01$). Проживание в городе также сопряжено с более высоким риском развития пищевой сенсибилизации у детей, не имеющих описторхоза. Тем не менее, среди горожан пищевая сенсибилизация развивается при наличии хронической описторхозной инвазии реже, чем у неинвазированных детей (17,24% и 24,71% соответственно, $p=0,01$).

Отмечено также, что в группе детей, не имеющих гельминтной инвазии среди девочек риск развития пищевой сенсибилизации меньше, чем у мальчиков. Однако, при наличии хронического описторхоза сенсибилизация развивается с одинаковой частотой как у мальчиков, так и у девочек (11,97% и 11,81%, соответственно, $p=0,32$).

Протективным фактором в отношении формирования пищевой сенсибилизации явилось наличие домашних животных в доме. Меньший риск развития пищевой сенсибилизации отмечен также при наличии старших братьев и сестер в семье.

При этом наличие описторхоза также являлось дополнительным протективным фактором: так, среди школьников, имеющих домашних животных, у больных хроническим описторхозом развитие пищевой сенсибилизации наблюдается реже, чем у детей без описторхозной инвазии (19,01% и 11,08% соответственно, $p=0,01$).

Распространенность пищевой сенсibilизации в зависимости от влияния различных факторов у больных хроническим описторхозом и неинвазированных детей

Показатели		Дети, не имеющие описторхоза, n (%)	OR (95% CI)	p	Больные хроническим описторхозом, n (%)	OR (95% CI)	p
Факторы	нет	38 (15,97)			18 (12,86)		
	есть	68 (26,36)	1,89 (1,18–3,01)	0,01	10 (10,31)	0,78(0,32–1,89)	0,55
Аллергические заболевания отца и матери	нет	38 (15,97)			18 (12,86)		
	есть	68 (26,36)	1,89 (1,18–3,01)	0,01	10 (10,31)	0,78(0,32–1,89)	0,55
Пол	мал	66 (26,61)			14 (11,97)		
	дев	40 (16,13)	1,89 (1,19–3,00)	0,01	14 (11,81)	1,03 (0,44–2,42)	0,94
Проживание в городе в возрасте до 2-х лет	нет	43 (17,24)			18 (10,06)		
	есть	63 (24,71)	2,05 (1,37–3,05)	0,01	10 (17,24)	0,54 (0,22–1,35)	0,14
Присутствие домашних животных	нет	37 (27,82)			5 (12,50)		
	есть	69 (19,01)	0,61 (0,37–0,99)	0,03	23 (11,68)	0,93 (0,31–2,99)	0,88
Наличие братьев и сестер	нет	51 (26,42)			9 (12,50)		
	есть	56 (18,48)	0,63 (0,40–0,99)	0,03	19 (11,52)	0,91(0,37–2,31)	0,82
Прием антибиотиков в возрасте до 2-х лет	нет	42 (20,28)			15 (12,19)		
	есть	64 (22,15)	1,12 (0,71–1,77)	0,61	13 (12,04)	0,96 (0,41–2,27)	0,42
Грудное вскармливание	нет	5 (11,36)			3 (10,34)		
	есть	101 (22,35)	2,24 (0,82–6,66)	0,08	25 (12,02)	1,18 (0,31–5,31)	0,79

OR – отношение шансов

95% CI – доверительный интервал

P – достигнутый уровень значимости

Среди больных описторхозом, в семье которых есть братья и сестры, пищевая сенсibilизация развивается в 11,52% случаев, а в отсутствие описторхоза сенсibilизация у данной категории обследованных развивается статистически значимо чаще – 18,48% ($p=0,03$).

Таким образом, формирование пищевой сенсibilизации – сложный процесс, на который оказывает влияние множество факторов, как средовых, так и генетических. При этом имеет значение не только влияние каждого фактора в отдельности, но и их сочетанное влияние. Так, описторхозная инвазия оказывает протективный эффект в формировании пищевой сенсibilизации даже при наличии наследственно обусловленной предрасположенности. Также протективное действие описторхозной инвазии сохраняется при наличии такого внешнесредового фактора риска, как проживание в городе. Сочетание описторхоза с рядом других протективных факторов, таких как наличие братьев и сестер или присутствие домашних животных, соответственно, приводит к потенцированию протективного влияния.

Резюме:

1. Клинически выраженная форма хронического описторхоза регистрируется у 59,41% пациентов, латентная – у 40,51% обследованных. Среди больных с клинически выраженной формой большинство составляют пациенты с высокой интенсивностью инвазии – 60,28%; значительно реже наличие проявлений описторхоза регистрируется у больных со средней и низкой интенсивностью инвазии: 16,71% и 23,4%, соответственно.
2. Наиболее частыми симптомами ПА у пациентов обеих групп являются поражение кожи, ЖКТ и ОАС. При этом, у детей, не имеющих описторхозной инвазии, чаще регистрируется эритематозное поражение кожи, по сравнению с группой больных хроническим описторхозом (65,27% против 47,65%, $p=0,01$). Так, на фоне хронической описторхозной инвазии чаще, чем у неинвазированных детей, отмечается поражение желудочно-кишечного тракта, которое характеризуется симптомами тошноты (31,25 % против 15,17% $p=0,01$),

вздутия кишечника (20,31% против 8,68% $p=0,01$) Также, в группе детей, не имеющих хронического описторхоза, более часто регистрируются жизнеугрожающие реакции и связанные с ними медицинские вмешательства: ингаляция кислорода, использование адреналина, однако различия не достигают статистической значимости.

3. Наличие хронической инвазии *Opisthorchis felinus* ассоциировано с меньшим риском развития пищевой сенсibilизации по результатам КПТ (OR=0,34; 95%CI 0,17–0,65; $p=0,01$) и результатам оценки уровня специфического IgE в сыворотке крови (OR=0,53; 95% CI 0,31 – 0,88; $p=0,01$). Меньшая вероятность развития сенсibilизации к пищевым аллергенам по результатам КПТ определения уровня IgE ассоциирована с инвазией *Opisthorchis felinus* высокой интенсивности.
4. В группе больных хроническим описторхозом отмечается достоверно более низкий средний уровень специфического IgE к наиболее распространенным пищевым аллергенам: фундук ($p=0,039$), яблоко ($p=0,004$), персик ($p=0,002$).
5. В группе больных хроническим описторхозом достоверно реже отмечается сенсibilизация к пыльцевым аллергенам, играющим основную роль в формировании перекрестной пищевой аллергии: берёзе ($p=0,008$), полыни ($p=0,016$).
6. Повышение уровня общего IgE сыворотки крови у больных хроническим описторхозом ассоциировано с интенсивностью инвазии. Наиболее высокие показатели регистрируются у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию на фоне высокой интенсивности инвазии.
7. В группе детей, не имеющих описторхозной инвазии, факторами риска развития пищевой сенсibilизации являются наличие аллергических заболеваний у родителей (OR=1,89; 95% CI 1,18–3,01; $p=0,01$), мужской пол (OR=1,89; 95% CI 1,19–3,00; $p=0,01$), проживание в городских условиях (OR=2,05; 95% CI 1,37–3,05; $p=0,01$). В группе детей, больных хроническим описторхозом, наличие данных факторов не приводит к повышению риска пищевой сенсibilизации. Протективными факторами в отношении развития

пищевой сенсibilизации у неинвазированных детей являются наличие сибсов, (OR=0,63; 95% CI 0,40–0,99; p=0,03), присутствие домашних животных (OR=0,61; 95% CI 0,37–0,99; p=0,03).

8. На фоне хронического описторхоза отмечается повышение вероятности развития оральной толерантности к куриному яйцу у детей в возрасте 7–10 лет (47,05% и 18,81%, соответственно, OR=4,30 95% CI 1,73–10,81 p=0,01). Развитие толерантности к молоку отмечается с одинаковой частотой у больных хроническим описторхозом и неинвазированных лиц (77,05% и 66,45%, соответственно, OR=1,69; 95% CI 0,82–3,55; p=0,12).

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПОНЕНТНОЙ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ (ЭТАП 3)

5.1. Клиническая характеристика исследуемых групп

Для участия в данном этапе выбраны пациенты, имеющие пищевую сенсibilизацию по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови и дети, не имеющие сенсibilизации, выбранные рандомизированным образом (n=171):

- Больные хроническим описторхозом (n=43):
 - с симптомами ПА (n=19, средний возраст $8,98 \pm 0,21$);
 - без симптомов ПА (n=24, средний возраст $8,93 \pm 0,23$).
- Дети, не имеющие хронического описторхоза (n=128):
 - с симптомами ПА (n=89, средний возраст $8,82 \pm 0,19$);
 - без симптомов ПА (n=39, средний возраст $8,86 \pm 0,11$).

Исследуемые группы были сопоставимы по полу (таблица 21).

Таблица 21

Распределение пациентов исследуемых групп по полу

Группы	Пол	Мальчики		Девочки	
		n	%	n	%
Больные хроническим описторхозом с симптомами ПА		11	45,83	13	54,17
Больные хроническим описторхозом, без симптомов ПА		8	42,11	11	57,89
Дети, не имеющие описторхоза, с симптомами ПА		51	57,30	38	42,70
Дети, не имеющие описторхоза, без симптомов ПА		21	53,85	18	46,15

Примечание: различия статистически не значимы

5.2. Результаты компонентной аллергодиагностики у больных хроническим описторхозом и у детей, не имеющих гельминтной инвазии

Молекулярный аллергологический анализ выполнялся у лиц, имеющих пищевую сенсibilизацию по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови, и у несенсибилизированных пациентов, выбранных рандомизированным образом. Проведено исследование специфического IgE к аллергену пыльцы березы Bet v1 и основным пищевым аллергенам, которые являются ведущими для географического региона проживания обследованных лиц [38, 136].

Согласно полученным данным, у детей, не имеющих хронической описторхозной инвазии, преобладала сенсibilизация к пищевым аллергенам класса II: Pru p1 (персик), Mal d1 (яблоко), Ara h8 (арахис), Cor a1 (фундук, рисунок 16).

Напротив, у больных хроническим описторхозом сенсibilизация к белкам данной группы отмечалась достоверно реже, и в качестве ведущих аллергенов регистрировались протеины класса I животного и растительного происхождения: Сур с1 (рыба), Gal d 2 (куриное яйцо), Bos d5 (молоко), Ara h1, Ara h2/6, Ara h3/4 (арахис), Cor a8, Cor a11 (фундук), Pru p3 (персик), Mal d3 (яблоко). Сенсibilизация к аллергенам класса I отмечалась с одинаковой частотой в обеих обследованных группах.

Следует отметить, что сенсibilизация к пищевым аллергенам класса II развивается вторично, на основании предшествующей сенсibilизации к пыльцевым аллергенам [34, 122]. Наиболее значимым пыльцевым аллергеном для географического региона, где проведено исследование (Западная Сибирь, Томская область), по результатам предшествующих исследований является аллерген березы Bet v1 [38, 18]. При этом, такие аллергены как Mal d1 (яблоко), Cor a1 (фундук), Pru p1 (персик), Ara h8 (арахис) имеют сходное с ним молекулярное строение, что лежит в основе феномена перекрестной реактивности. Нами проанализирована распространенность сенсibilизации к аллергену Bet v1 и его гомологам в исследуемых группах.



* $p < 0,05$ – при сравнении с показателями в группе больных хроническим описторхозом (χ^2 -Пирсона)

класс I: Cyp c1 – рыба; Gal d 2 – куриное яйцо; Bos d5 – молоко; Ara h1, Ara h2/6, Ara h3/4 – арахис; Cor a8, Cor a11 – фундук; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко

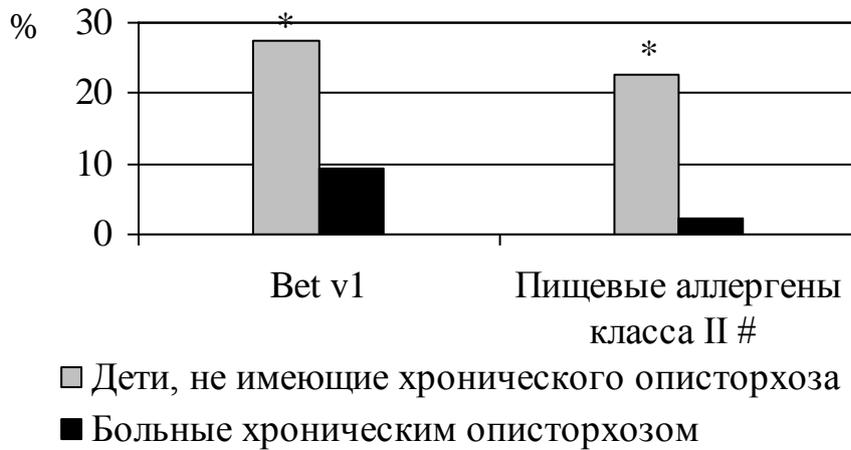
класс II: Pru p1 – персик; Mal d1 – яблоко; Ara h8 – арахис; Cor a1 – фундук

Рисунок 16. Распространенность сенсibilизации к пищевым аллергенам по результатам компонентной аллергодиагностики в зависимости от наличия описторхозной инвазии

Установлено, что у больных хроническим описторхозом распространенность сенсibilизации к аллергену березы Bet v1 статистически значимо ниже, чем у детей, не имеющих гельминтной инвазии. В этой связи в данной группе отмечается более низкая распространенность сенсibilизации к пищевым аллергенам – гомологам Bet v1 (рисунок 17).

Так, сенсibilизация к пищевым белкам, имеющим молекулярное сходство с аллергеном у Bet v1 (класс II), отмечена у 22,65% детей, не имеющих

описторхоза, и 2,32% школьников с хроническим описторхозом ($p=0,01$; $OR=0,08$; $95\%CI 0,01-0,59$).



* – $p<0,05$ при сравнении с показателями в группе больных хроническим описторхозом (χ^2 -Пирсона)

класс II: Pru p1 – персик; Mal d1 – яблоко; Ara h8 – арахис; Cor a1 – фундук

Рисунок 17. Распространенность сенсibilизации к bet v 1 и его гомологам у детей в зависимости от наличия описторхоза

Также установлено, что среди неинвазированных описторхозом детей, сенсibilизированных к Bet v1, перекрестная сенсibilизация к пищевым аллергенам класса II (Mal d1, Pru p1, Cor a1, Ara h8) зарегистрирована у 82,86%; в группе детей, больных хроническим описторхозом, имеющих сенсibilизацию к Bet v1, данный показатель составил 25% ($p=0,04$; $OR=0,07$; $95\%CI 0,01-0,99$). Таким образом, наличие хронической описторхозной инвазии ассоциировано со снижением риска формирования перекрестной реактивности к пищевым аллергенам у детей, сенсibilизированных к Bet v1.

5.3. Особенности клинических симптомов пищевой аллергии в зависимости от сенсibilизации к аллергенам различных классов

В ходе настоящего этапа исследования проанализирована зависимость клинических симптомов ПА от характера сенсibilизации к различным типам пищевых аллергенов (таблица 22).

Распространенность клинических симптомов пищевой аллергии у детей с сенсibilизацией к пищевым аллергенам класса I[#] в зависимости от наличия хронического описторхоза (метод логистической регрессии)

Статистические Показатели		Дети, не имеющие описторхоза				Больные хроническим описторхозом			
		Наличие сенсibilизации n, %	OR	95% CI	p	Наличие сенсibilизации n, %	OR	95% CI	P*
ОАС	нет	11 (10,29%)				6 (15,78%)			
	есть	10 (47,62%)	7,93	0,89–26,49	0,34	2 (40,00%)	3,56	0,32–37,05	0,48
Поражение кожи	нет	7 (6,86%)				5 (12,82%)			
	есть	14 (53,84%)	15,83	4,76–54,98	0,01	3 (75,00%)	20,40	1,38–637,12	0,01
Поражение ЖКТ	нет	16 (13,44%)				4 (10,81%)			
	есть	5 (55,56%)	8,05	1,64–41,08	0,01	4 (66,67%)	16,50	1,71–204,42	0,01
Ринит	нет	18 (14,88%)				6 (14,63%)			
	есть	3 (42,85%)	4,29	0,69–25,60	0,15	2 (66,67%)	11,3	0,63–380,93	0,14
Конъюнктивит	нет	18 (14,75%)				7 (17,07%)			
	есть	3 (50,00%)	5,78	0,84–39,96	0,08	1 (50,00%)	4,86	0,01–208,75	0,81
Жизнеугрожающие состояния ##	нет	15 (12,82 %)				6 (15,38%)			
	есть	6 (54,55%)	8,16	1,89–36,30	0,01	2 (50,00%)	5,5	0,43–73,33	0,31

– класс I: Bos d5 – молоко; Gal d 2 – куриное яйцо; Сур с1 – рыба; Cor a8, Cor a11– фундук; Ara h1, Arah2/6, Arah3/4 – арахис; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко

– жизнеугрожающие состояния: бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, отек Квинке, анафилактический шок, артериальная гипотензия, синкопальные состояния

*p – достигнутый уровень значимости

OR – отношение шансов

95% CI – доверительный интервал

Так, у детей, не имеющих хронической описторхозной инвазии, сенсibilизация к термостабильным аллергенам класса I ассоциирована с поражением кожи, гастроинтестинальными симптомами, в то время как проявления ринита и конъюнктивита не характерны. Установлена статистически значимая позитивная ассоциация сенсibilизации к аллергенам класса I и таких жизнеугрожающих клинических проявлений, как бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, отек Квинке, синкопальные состояния, артериальная гипотензия, анафилактический шок.

В группе больных хроническим описторхозом сенсibilизация к термостабильным аллергенам ассоциирована, главным образом, с поражением кожи и гастроинтестинального тракта, в то время как в отношении жизнеугрожающих клинических проявлений статистически значимой взаимосвязи не получено.

Результаты анализа ассоциации клинических проявлений и сенсibilизации к пищевым аллергенам класса II у детей, не имеющих хронического описторхоза, отражены в таблице 23. Сенсibilизация к данному типу ассоциирована с локальными симптомами: ОАС, ринитом и сочетанием указанных проявлений с конъюнктивитом. В отношении системных клинических проявлений – поражений кожи и ЖКТ, респираторных симптомов, отека Квинке, и других жизнеугрожающих проявлений статистически значимой зависимости не установлено. В группе больных хроническим описторхозом сенсibilизация к аллергенам данной группы отмечена у одного пациента, при этом клинические проявления характеризуются локальными симптомами: оральным аллергическим синдромом, риноконъюнктивитом при употреблении яблок в сыром виде.

Приоритетным направлением компонентной аллергодиагностики является верификация сенсibilизации к аллергенам, провоцирующим развитие тяжелых аллергических реакций и жизнеугрожающих состояний [178, 52].

Распространенность клинических симптомов пищевой аллергии у детей с сенсibilизацией к пищевым аллергенам класса II[#], не имеющих описторхоза

Клинические симптомы		Статистические показатели	Наличие сенсibilизации n, %	OR	(95% CI)	p
Оральный аллергический синдром (ОАС)	нет		9 (9,28%)			
	есть		9 (29,03%)	4,00	1,27–12,70	0,01
Ринит	нет		3 (3,03%)			
	есть		5 (16,13%)	6,03	1,15–34,55	0,03
Конъюнктивит	нет		3 (3,03%)			
	есть		2 (2,65%)	2,16	0,24–17,03	0,75
ОАС+ринит и /или конъюнктивит	нет		11 (11,34%)			
	есть		13 (41,94%)	5,56	1,98–16,13	0,01
Поражение кожи	нет		14 (14,43%)			
	есть		3 (9,68%)	0,64	0,13–2,62	0,71
Поражение ЖКТ	нет		5 (5,15%)			
	есть		3 (9,68%)	1,97	0,35–10,34	0,63

– класс II: Mal d1 – яблоко; Cor a1 – фундук; Pru p1 – персик; Ara h8 – арахис

– жизнеугрожающие состояния: бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, анафилактический шок, артериальная гипотензия, синкопальные состояния

*p – достигнутый уровень значимости

OR – отношение шансов

95% CI – доверительный интервал

В работе проанализирована взаимосвязь между сенсibilизацией к отдельным структурным аллергенам и развитием тяжелых клинических реакций (бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, анафилактический шок, артериальная гипотензия, синкопальные состояния) у больных хроническим описторхозом и без инвазии (таблица 24).

Распространенность жизнеугрожающих симптомов у детей с сенсбилизацией к пищевым аллергенам класса I в зависимости от наличия описторхоза (метод логистической регрессии)

Показатели		Дети, не имеющие описторхоза				Больные хроническим описторхозом			
		Наличие жизнеугрожающих симптомов	OR	95% CI	p	Наличие жизнеугрожающих симптомов	OR	95% CI	p
Аллергены	нет								
	есть								
Сур с 1 (рыба)	нет	6 (5,13%)				1 (2,56)			
	есть	6 (54,55%)	22,10	4,34–123,00	0,01	2 (50%)	38,00	1,56–196	0,01
Gal d 2 (куриное яйцо)	нет	1 (0,85%)				1 (2,56)			
	есть	3 (27,27%)	43,50	3,34–1231,96	0,01	1 (25,0%)	12,67	–	0,43
Арахис	Ara h1	нет	1 (0,85%)			1 (2,56)			
		есть	2 (18,18%)	25,78	1,15–468,66	0,01	0	–	–
	Ara h2/6	нет	1 (0,85%)			1 (2,56)			
		есть	1 (9,09%)	11,60	0,01–468,66	0,45	0	–	–
	Ara h3/4	нет	1 (0,85%)			0			
		есть	1 (9,09%)	11,60	0,01–468,66	0,45	0	–	–
Фундук	Cor a8	нет	1 (0,85%)			0			
		есть	2 (18,18%)	25,78	1,15–468,66	0,01	0	–	–
	Cor a11	нет	2 (1,71%)			1 (2,56)			
		есть	2 (18,18%)	12,71	1,11–150,89	0,03	0	–	–
Pru p 3 (персик)	нет	2 (1,71%)			1 (2,56)				
	есть	2 (18,18%)	12,71	1,11–150,89	0,03	0	–	–	
Mal d 3 (яблоко)	нет	3 (2,56%)				0			
	есть	2 (18,18%)	8,44	0,85–76,33	0,08	0	–	–	

– жизнеугрожающие состояния: бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, отек Квинке, анафилактический шок, артериальная гипотензия, синкопальные состояния

* p – достигнутый уровень значимости; OR – отношение шансов; 95% CI – доверительный интервал

Установлено, что в группе детей, не имеющих хронической описторхозной инвазии, развитие тяжелых аллергических реакций ассоциировано с сенсibilизацией к аллергенам Сур с1 (рыба), Gal d2 (куриное яйцо), Ara h1 (арахис), Cor a8, Cor a11 (фундук), Pru p3 (персик).

Вероятно, наличие сенсibilизации к указанным аллергенам может расцениваться как фактор риска развития тяжелых и жизнеугрожающих состояний у больных ПА.

В группе больных хроническим описторхозом развитие тяжелых аллергических реакций, вызванных употреблением пищевых продуктов, связано главным образом, с наличием сенсibilизации к аллергену рыбы Сур с1, в то время как другие аллергены растительного и животного происхождения не ассоциированы с развитием жизнеугрожающих состояний (таблица 26).

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о влиянии хронической описторхозной инвазии на формирование сенсibilизации и характер клинического течения ПА. В качестве примера в данном разделе описаны два клинических случая, демонстрирующие особенности ПА в связи с наличием хронической описторхозной инвазии.

Клинический случай 1

Больная К. 11 лет, г. Томск.

Поступила в ОГБУЗ «Областная детская больница» г. Томска в апреле 2013 г. с жалобами на эритематозные высыпания на разгибательных поверхностях локтевых и подколенных суставов, кистях рук, кожный зуд.

Анамнез заболевания: первые проявления атопического дерматита появились в возрасте 5 мес. после введения прикорма. Получала лечение системными и топическими глюкокортикостероидными средствами, антигистаминными препаратами. Проходила обследование у аллерголога–иммунолога, неоднократно была госпитализирована в отделение аллергологии и клинической иммунологии ОГБУЗ «Областная детская больница» г. Томска. В последние три года отмечается снижение частоты обострений атопического

дерматита и более легкое течение заболевания: локальные проявления на пальцах рук, при погрешностях в диете. Настоящее обострение связано с употреблением в пищу выпечки, в составе которой содержатся компоненты арахиса в скрытом виде.

Атопический статус

Пищевая аллергия

Орехи (фундук, арахис, миндаль): гастроинтестинальные симптомы, уртикарная сыпь, зуд кожи, респираторные симптомы. Отмечалось 2 случая развития жизнеугрожающих состояний (последнее – в 2010 г., после употребления выпечки, содержащей компоненты орехов);

Рыба: гастроинтестинальные симптомы, уртикарная сыпь, зуд кожи, респираторные симптомы, развиваются при употреблении в пищу и вдыхании специфического запаха. Соблюдается строгая элиминационная диета.

Куриное яйцо: гастроинтестинальные симптомы, уртикарная сыпь, зуд кожи, респираторные симптомы. Клинические проявления отмечались при употреблении в пищу и контакте с сырым продуктом. В настоящее время к куриному яйцу сформировалась толерантность. Необходимости в элиминационной диете нет.

Сырые фрукты и овощи (яблоко, персик, морковь): развивается оральный аллергический синдром. В настоящее время на фоне специфической сублингвальной иммунотерапии отмечается развитие толерантности к указанным продуктам.

Аллергический ринит: симптомы средней степени тяжести с апреля по июнь (в период полликации березы). В последние два года отмечается улучшение клинического течения на фоне сублингвальной иммунотерапии. В период обострения в качестве базисной терапии использует назальный спрей флутиказона пропионата.

Бронхиальная астма: диагноз впервые был поставлен в 2005 году, когда девочке было 2 года. Периоды обострения связаны с периодом полликации березы, дважды регистрировалось состояние астматического статуса. В настоящее

время диагноз: Аллергическая бронхиальная астма, персистирующая, средней степени тяжести, пыльцевая сенсibilизация, контролируемое течение. Получает базисную терапию препаратом флутиказона пропионат / сальметерол ксинафоат 250/25 мкг 2 раза в сутки.

Объективный статус

Общее состояние средней степени тяжести, самочувствие страдает из-за выраженного зуда. Положение активное, сознание ясное.

Кожные покровы: на разгибательных поверхностях локтевых и коленных суставов, а также на ладонной поверхности кистей рук отмечаются обширные эритематозно-сквамозные высыпания, мокнутие, экскориации. Индекс SCORAD = 40 баллов.

Носовое дыхание не затруднено. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Подкожно-жировой слой развит умеренно, распределен равномерно. Костно-мышечная система без видимых деформаций, движения в суставах в полном объеме.

При осмотре грудная клетка цилиндрической формы. Частота дыхания составляет 19 в минуту. Перкуторный звук легочный, одинаковый над симметричными участками грудной клетки. При аускультации определяется везикулярное дыхание, хрипов нет.

Область сердца без видимых патологических изменений. Число сердечных сокращений 84 в минуту, соответствует пульсу. Тоны сердца приглушены, ритмичные. Артериальное давление 110/70 мм рт. ст., одинаковое на обеих руках.

Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень пальпируется по краю реберной дуги, пузырьные симптомы отрицательные. Селезенка не увеличена. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон.

Физиологические отправления в норме.

Результаты обследования

Пикфлоуметрия (09.2013 г.)

Показатель суточной лабильности бронхов за последний месяц 4–9%

PEF min/max – 400/450 л/мин (норма 340 л/мин)

Исследование функции внешнего дыхания (09.2013 г.)

Дата	13/04/2013
ПСВ	5,06 (100%)
ОФВ ₁	2,41 (111,03%)
ЖЕЛ	3,11 (122,76%)
ОФВ ₁ /ЖЕЛ	77,61 (91,83%)

Результаты кожного прик-тестирования (09.2013 г.)(средний диаметр папулы, мм)

Яблоко	3	Треска	8
Арахис	2	Лосось	10
Фундук	6	Яйцо	5
Подсолнечник	6,5	Микст трав	5,5
Рыба	5	Полынь	4
Морковь	4	Плесневые грибы	2,5
Гистамин	5	Негативный контроль	0

Определение общего/специфического IgE сыворотки крови (ImmunoCAP) кЕА/л:
(09.2013 г.)

Общий IgE	1381		
Береза	90	Лосось	35,7
Тополь	1,81	Яблоко	21,42
Микст трав	2,82	Горох	8,87
Полынь	3,85	Куриное яйцо	0,02
Перхоть кошки	7,74	Говядина	0,03
Перхоть собаки	0,84	Молоко	0,07
Морковь	4,4	Рыба (треска, сельдь, палтус, скумбрия)	18,34
Пшеница	3,46		

Компонентная аллергодиагностика (ImmunoCAP ISAC) кЕА/л:
(09.2013 г.)

Яблоко		Персик		Арахис	
Mal d1	3,46	Pru p1	2,21	Ara h1	2,13
Mal d3	1,62	Pru p3	1,14	Ara h2/6	0,56
Фундук		Рыба		Ara h3/4	0,05
Cor a 1	2,11	Сурс1	4,3	Ara h8	2,84
Cor a11	0,97	Куриное яйцо		Береза	
Cor a 8	1,12	Gal d2	0,83	Bet v1	7,87

Копроовоскопия (09. 2013 г.): простейшие и яйца гельминтов не обнаружены

ПЦР–диагностика *Opisthorchis felinus* в образцах стула в режиме реального времени (09. 2013 г.): Ct=0 (результат отрицательный).

Клинический диагноз

Основной

Пищевая аллергия: Атопический дерматит, детская форма, распространенный, эритематозно–сквамозная форма, период обострения.

Оральный аллергический синдром.

Сопутствующий:

Аллергическая бронхиальная астма, персистирующая, средней степени тяжести, пыльцевая сенсibilизация, контролируемое течение.

Аллергический ринит, интермиттирующий, средней степени тяжести (пыльцевая сенсibilизация)

Лечение и рекомендации:

1. Строгая элиминационная диета (исключить рыбу, орехи, арахис). Рекомендовано внимательно изучать состав продуктов, употребляемых в пищу на предмет содержания в них потенциально опасных аллергенов в скрытом виде. Учитывая наличие сенсibilизации к аллергенам, ассоциированным с развитием жизнеугрожающих симптомов (Ara h1, Ara h 2, Cor a8, Cor a9), а также наличие подобных состояний в анамнезе, проведена беседа с родителями относительно мероприятий экстренной медицинской помощи при возникновении анафилактических реакций.

2. Лечение основного заболевания:

–цетиризин (таблица) 10 мг 1 раз в сутки –10 дней

–мометазон 0,1% (крем) – наносить на участки поражения 1 раз в сутки 3–4 дня

3. Лечение сопутствующей аллергической патологии:

–флутиказон/сальметерол 250/25 мкг ингаляционно, 2 раза в сутки – 3 мес.

–сальбутамол – по требованию, 100 мкг, при необходимости повторить ингаляцию через 20 минут (до трех раз в сутки)

4. Пикфлоуметрия – дважды в сутки до приема ингаляционных препаратов.
Ведение дневника самоконтроля
5. Флутиказона пропионат – интраназально 50 мкг 1 раз в день, при развитии симптомов в период поллинозиса березы
6. С целью десенсибилизации к Bet v1 и его гомологам рекомендовано проведение курса сублингвальной иммунотерапии в течение в течение 3-х лет (Сталораль).

Клинический случай 2

Больной М. (9 лет), проживает в с. Каргасок.

Поступил в ОГБУЗ «Областная детская больница» г. Томска в августе 2013 года с жалобами на эритематозные высыпания на разгибательных поверхностях локтевых суставов, на кистях рук, кожный зуд. Также пациента периодически беспокоят тошнота, боли тянущего характера в правом подреберье после приема жирной пищи.

Анамнез заболевания: первые проявления атопического дерматита появились в возрасте 3 мес. с введением в рацион питания цельного коровьего молока. Также обострение атопического дерматита отмечалось при употреблении куриного яйца, арахиса, орехов. В течение 1-го года жизни частые обострения, связанные с нарушением диеты. Получал лечение системными и топическими ГКС, антигистаминными препаратами. Проходил обследование у аллерголога–иммунолога. С 3-х лет отмечается снижение частоты обострений атопического дерматита и развитие толерантности к коровьему молоку, с 5 лет – к куриному яйцу. В последние 2 года отмечаются обострения атопического дерматита в виде локальных проявлений 1 – 3 раза в год при несоблюдении элиминационной диеты.

Семейный анамнез. В семье 5 человек: отец, мать и трое детей, у мальчика старший брат и младшая сестра. Аллергических заболеваний у родителей и сибсов нет.

Условия проживания: ребенок проживает в сельской местности в частном доме. В семье бытует рыбный промысел. В соответствии со сложившимися традициями рыба часто употребляется в пищу, в том числе и в термически необработанном виде. Отдельной кухонной утвари для разделки рыбы не предусмотрено.

Объективный статус

Общее состояние средней степени тяжести, самочувствие страдает в равной степени из-за выраженного кожного зуда. Положение активное, сознание ясное.

Кожные покровы: на разгибательных поверхностях локтевых и коленных суставов, а также на ладонной поверхности кистей рук отмечаются эритематозные высыпания, эксфолиации. Индекс SCORAD = 22 балла.

Носовое дыхание не затруднено. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Подкожно-жировой слой развит умеренно, распределен равномерно. Костно-мышечная система без видимых деформаций, движения в суставах в полном объеме.

При осмотре грудная клетка цилиндрической формы. Частота дыхания составляет 20 в минуту. При перкуссии: перкуторный легочный, одинаковый над симметричными участками грудной клетки. При аускультации определяется везикулярное дыхание, хрипов нет.

Область сердца без видимых патологических изменений. Число сердечных сокращений 88 в минуту, соответствует пульсу. Тоны сердца приглушены, ритмичные. Артериальное давление 110/70 мм. рт. ст., одинаковое на обеих руках.

Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень пальпируется по краю реберной дуги. Положительный симптом Мерфи. Селезенка не увеличена. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон.

Физиологические отправления в норме.

Результаты обследования:

Результаты кожного прик-тестирования (08.2013г.)

(Средний диаметр паулы, мм)

Яблоко	1	Грецкий орех	4
Арахис	8	Яйцо	2

Фундук	6	Полынь	1
Морковь	5	Микст трав	1
Гистамин	3	Негативный контроль	0

Определение общего/специфического IgE сыворотки крови (ImmunoCAP) кЕА/л:
(08.2013г.)

Общий IgE	954		
Береза	0,00	Яблоко	0,02
Микст трав	0,01	Арахис	4,84
Полынь	0,01	Фундук	3,62
Морковь	0,68	Грецкий орех	2,16
Рыба	0,00	Куриное яйцо	0,23
Свинина	0,00	Молоко	0,07

Компонентная аллергодиагностика (ImmunoCAP ISAC) кЕА/л:
(08.2013г.)

Яблоко		Персик	10мм	Арахис	
Mal d1	0,02	Pru p1	0,0	Ara h1	3,48
Mal d3	0,01	Pru p3	0,00	Ara h2/6	0,56
Фундук		Рыба		Ara h3/4	0,01
Cor a1	2,11	Суп с1	0,04	Ara h8	0,02
Cor a11	0,97	Куриное яйцо		Береза	
Cor a8	0,01	Gal d2	0,01	Bet v1	0,00

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости (08.2013)

Отмечаются признаки холецистита: утолщение стенки желчного пузыря, в полости – наличие неоднородной взвеси.

Дуоденальное зондирование (08.2013):

Порция «А1»: через 30 мин., 18 мл, шла 15мин.

желтая, мутная, слизь (+), эпителий в большом количестве, яйца *Opisthorchis felineus*

Порция «А2»: через 3 мин. после MgSO₄

желтая, прозрачна, слизь (+)

Порция «В»: 70 мл, шла 40 мин.

светло-оливковая, слабо мутная, слизь (++), эпителий, лейкоциты в большом количестве, яйца *Opisthorchis felineus*

Порция «С» 15мл, шла 15 мин.

желтая, прозрачная, слизь (+)

Заключение: дискинезия желчевыводящих путей по гипотоническому типу;

Инвазия *Opisthorchis felineus*.

Копроовоскопия (08. 2013г.): яйца *Opisthorchis felineus*

ПЦР-диагностика *Opisthorchis felineus* в образцах стула в режиме реального времени (08. 2013г.): Ct=28,12 (соответствует инвазии высокой интенсивности)

Клинический диагноз:

Основной

Атопический дерматит, детская форма, локализованный, подострое течение, пищевая сенсibilизация

Сопутствующий

Хронический описторхоз, клинически выраженная форма (хронический холецистит; дискинезия желчевыводящих путей по гипотоническому типу), период обострения.

Лечение и рекомендации:

1. Дегельминтизация по поводу описторхоза по стандартной схеме:

– празиквантел 50мг/кг в 3 приема.

– аллохол 1/2 таблица/3 р. в день – 14 дней;

– карсил 1/2 таблица /3 р. в день – 14 дней;

– тюбажи с минеральной водой 1 раз в неделю – 1 мес.

2. Учитывая, что у данного пациента имеет место сенсibilизация к аллергенам класса I (Cor a 1, Cor a11, Ara h1, Ara h2/6) и присутствует риск развития тяжелых аллергических реакций, пациенту рекомендуется соблюдение строгой элиминационной диеты (исключить орехи, арахис). Вследствие проведенной дегельминтизации возможно усиление клинической симптоматики, в связи с чем рекомендовано внимательно изучать состав продуктов, употребляемых в пищу на предмет содержания в них аллергенов арахиса и орехов в скрытом виде.

3. Лечение атопического дерматита:

–цетиризин (таблица) 10 мг 1 раз в сутки – 10 дней

–мометазон 0,1% (крем) – наносить на участки поражения 1 раз в сутки 3 – 4 дня

4. Рекомендовано употребление в пищу речной рыбы исключительно после соответствующей термической обработки.

Резюме:

1. Сенсibilизация к аллергенам класса I (Cup s1 – рыба; Gal d 2 – куриное яйцо; Bos d5 – коровье молоко; Ara h1, Ara h2/6, Arah3/4 – арахис; Cor a8, Cor a11 – фундук; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко) регистрируется с одинаковой частотой в группе больных хроническим описторхозом и у неинвазированных лиц. Данный тип сенсibilизации у детей, не имеющих описторхоза, ассоциирован с поражением кожи в виде уртикарий, зудящих эритематозных и папулезных высыпаний (OR=15,83; 95% CI 4,76–54,98; p=0,01), гастроинтестинальными симптомами (OR=8,05; 95% CI 1,64–41,08; p=0,01), жизнеугрожающими состояниями (бронхообструктивным синдромом, ларингоспазмом, отеком Квинке, анафилактическим шоком, артериальной гипотензией, синкопальными состояниями (OR=8,16; 95% CI 1,89–36,30; p=0,01). В группе больных хроническим описторхозом сенсibilизация к аллергенам класса I сопряжена с гастроинтестинальными проявлениями (OR=16,5; 95% CI 1,71–204,42; p=0,01) и кожными симптомами (OR=20,40; 95% CI 1,38–637,12; p=0,01) и не сопровождается повышением риска развития жизнеугрожающих состояний.
2. В группе детей, не имеющих инвазии *Opisthorchis felinus*, сенсibilизация к аллергенам класса II (Mal d1 – яблоко, Pru p1 – персик, Cor a1 – фундук, Ara h8 – арахис) регистрируется чаще, чем у больных хроническим описторхозом (22,65% и 2,32% соответственно, p=0,01; OR=0,08; 95% CI 0,01–0,59). Наличие хронической описторхозной инвазии ассоциировано со снижением вероятности формирования перекрестной реактивности к указанным пищевым

аллергенам у детей, сенсibilизированных к аллергену пыльцы березы Bet v1 ($p=0,04$; $OR=0,07$; 95% CI 0,01–0,99).

3. Сенсibilизация к аллергенам класса II у детей, не имеющих хронического описторхоза, положительно ассоциирована с локальными клиническим симптомами: ОАС ($OR=4,00$; 95% CI 1,27–12,70; $p=0,01$), ринитом ($OR=6,03$; 95% CI 1,15–34,55; $p=0,03$), а также сочетанием указанных проявлений с конъюнктивитом ($OR=5,56$; 95% CI 1,98–16,13; $p=0,01$). Системные аллергические реакции, в том числе жизнеугрожающие проявления, не характерны для сенсibilизации к данной группе аллергенов.
4. Риск развития анафилаксии у детей, не имеющих описторхоза, ассоциирован с наличием сенсibilизации к аллергенам Сур с1 – рыба ($OR=22,10$; 95% CI 4,34–123,00; $p=0,01$), Gal d2 – куриное яйцо ($OR=43,50$; 95% CI 3,34–1231,96; $p=0,01$), Ara h1 – арахис ($OR=25,78$; 95% CI 1,15–468,66; $p=0,01$), Cor a8 ($OR=25,78$; 95% CI 1,15–468,66; $p=0,01$), Cor a11 – фундук ($OR=12,71$; 95% CI 1,11–150,89; $p=0,03$), Pru p3 – персик ($OR=12,71$; 95% CI 1,11–150,89; $p=0,03$). Для больных хроническим описторхозом маркером развития жизнеугрожающих состояний является парвальбумин рыбы – Сур с1 ($OR=38,00$; 95% CI 1,56–196; $p=0,01$).

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ

Сенсибилизация к пищевым аллергенам представляет собой ключевое звено «атопического марша», которое зачастую является стартовым для последующего развития аллергических заболеваний. Так, по данным ряда проспективных исследований, приблизительно у 43 – 50% пациентов с ПА в дальнейшем развиваются аллергические респираторные заболевания – БА и АР [163, 1, 92]. Пищевая сенсибилизация может быть причиной развития тяжелых, жизнеугрожающих и фатальных реакций: 30 – 50% всех острых аллергических состояний, требующих госпитализации в отделения неотложной терапии, связаны с употреблением различных продуктов питания [63].

Риск развития аллергических болезней зависит не только от генетической предрасположенности, но и от многочисленных внешнесредовых факторов, способных модифицировать иммунный ответ. Так, установлено, что проживание в сельской местности, а также наличие домашних животных в доме ассоциировано с меньшим риском развития аллергии [160, 156]. Протективным фактором в отношении развития аллергических болезней является наличие старших братьев и сестер в семье [89]. В предшествующих исследованиях показана роль гельминтных инвазий в модификации активности аллергического воспаления [73, 79].

Особую актуальность данное научное направление приобретает для Российской Федерации, на территории которой зарегистрировано несколько природных очагов, эндемичных по гельминтным инвазиям. Среди них – Обь-Иртышский бассейн, который является одним из самых крупных очагов инвазии *Opisthorchis felineus* в мире [6]. Широкая пораженность населения данным гельминтозом достигается за счет пищевых традиций коренных жителей, употребляющих в пищу термически необработанную рыбу [2]. Так, распространенность описторхозной инвазии среди детского населения Томской области варьирует от 10,53% до 57,14% [32]. Установлено, что распространенность ПА у детей в эндемичном по описторхозной инвазии очаге

ассоциирована с распространенностью хронического описторхоза. При этом, наличие хронического описторхоза ассоциировано с меньшим риском развития ПА [38]. В этой связи является актуальным изучение влияния хронической инвазии *Opisthorchis felinus* на развитие пищевой сенсibilизации у инвазированных детей.

Цель настоящего исследования – установить закономерности развития сенсibilизации к пищевым аллергенам и особенности клинического течения пищевой аллергии в зависимости от наличия и интенсивности хронической инвазии *Opisthorchis felinus* для оптимизации диагностики пищевой сенсibilизации у детей.

Настоящая работа выполнена в рамках фундаментального эпидемиологического «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» по гранту VI рамочной программы Евросоюза (№ FP6-2006-TTC-TU-5 Proposal 045879; главный исследователь в г. Томске член-корр. РАМН, д-р. мед. наук, профессор Л.М. Огородова) [40, 165].

В соответствии с поставленной целью спланированы три этапа исследования:

1. Исследование распространенности инвазии *Opisthorchis felinus* различной интенсивности.
2. Исследование влияния *Opisthorchis felinus* на формирование пищевой сенсibilизации у детей.
3. Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной аллергодиагностики.

Изучение распространенности инвазии *Opisthorchis felinus* различной интенсивности (результаты этапа 1)

Данный этап исследования выполнен в дизайне одномоментного эпидемиологического исследования в репрезентативной выборке детей в возрасте 7–10 лет (n=733). Сформированы выборки детей, проживающих в трех

географических регионах: городская выборка (г. Томск, $n=270$, средний возраст $8,34\pm 1,06$ лет); выборка сельских районов с высокой распространенностью описторхоза ($n=260$, средний возраст $9,01\pm 0,84$ лет); выборка сельских районов с низкой распространенностью инвазии ($n=203$, средний возраст $8,78\pm 1,46$ лет).

В исследовании использовали метод ПЦР в режиме реального времени, разработанный совместно коллективом СибГМУ и партнерами Медицинского центра Лейденского Университета, Нидерланды (рук. отдела паразитологии – проф. М. Язданбакш) [10]. Особенность данного вида диагностики состоит в том, что реакция полимеризации происходит с участием флуоресцентного маркера. Возникновение характерного свечения позволяет определить наличие минимального количества ДНК паразита в исследуемом образце с высокой степенью точности, а также позволяет судить о количестве антигена в исходном материале и, следовательно, об интенсивности инвазии.

Метод ПЦР широко применяется в паразитологии для идентификации ДНК возбудителя в различных биологических средах (сыворотке крови, кале, моче). Так, в исследовании инвазии *Schistosoma mansoni* с использованием ПЦР установлено, что чувствительность диагностикума составляет 96,8%, а специфичность – 88% [70]. ПЦР в режиме реального времени отличается ещё более высокими показателями: чувствительность диагностикумов инвазии *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* достигает 99,5%, специфичность – 98,5%. При этом, эффективность диагностики связана, прежде всего, с выявлением случаев инвазии низкой интенсивности [131, 71].

В настоящем исследовании проанализирована распространенность инвазии *Opisthorchis felineus* по результатам ПЦР-диагностики в режиме реального времени у детей 7 – 10 лет, проживающих в трех географических регионах. Наиболее высокий показатель распространенности описторхозной инвазии зарегистрирован в сельских районах с высоким уровнем описторхоза – 48,08%, что статистически значимо выше, чем в сельских районах с низкой распространенностью описторхоза (33,5%, $p=0,01$). В городской выборке распространенность описторхозной инвазии была наименьшей и составила

16,29% ($p < 0,05$ при попарных сравнениях с показателями в обеих сельских выборках).

В дальнейшем нами проведена оценка распространенности инвазии различной интенсивности в исследуемых выборках. Высокая интенсивность инвазии наиболее часто регистрировалась в сельских выборках (63,2% в сельской выборке с высокой распространенностью описторхоза, 55,9% в сельской выборке с низкой распространенностью описторхоза) в сравнении с городской выборкой (22,73%, $p < 0,05$ при попарных сравнениях с сельскими выборками). Инвазия средней интенсивности установлена у 24,09% детей сельской выборки с высокой распространенностью описторхоза, 19,18% представителей сельской выборки с низкой распространенностью описторхоза и 18,18% горожан ($p > 0,05$ при попарных сравнениях). Инвазия низкой интенсивности наиболее часто диагностировалась у жителей г. Томска (59,09%) в сравнении с выборками школьников сельских районов с высокой и низкой распространенностью описторхоза (12,8% и 25%, соответственно; $p < 0,05$ при попарных сравнениях с городской выборкой).

Очевидно, значительная распространенность инвазии высокой интенсивности у сельских жителей связана с образом жизни: так большинство сельских жителей, включая детей и подростков, занимаются любительским ловом рыбы, также широко распространено повторное употребление речной рыбы в сыром и малосоленом виде, что может вызывать суперинвазию и приводить к увеличению интенсивности инвазии [6, 2]. Напротив, для городского образа жизни более характерно редкое употребление речной рыбы и более тщательное соблюдение санитарных условий приготовления пищи.

Таким образом, в ходе проведенного исследования с использованием ПЦР-диагностики в режиме реального времени получены новые эпидемиологические данные о распространенности описторхозной инвазии различной интенсивности у школьников г. Томска и сельских районов Томской области.

Исследование влияния *Opisthorchis felinus* на формирование пищевой
сенсibilизации у детей (результаты этапа 2)

Данный этап выполнен в дизайне одномоментного исследования «случай–контроль». Для участия в исследовании сформированы следующие группы:

–больные хроническим описторхозом (пациенты с симптомами ПА, n=128, средний возраст $9,01 \pm 1,05$ лет; пациенты без симптомов ПА, n=109, средний возраст $8,95 \pm 1,01$ лет);

–дети, не имеющие хронической описторхозной инвазии (дети с симптомами ПА, n=311, средний возраст $8,75 \pm 1,06$ лет; дети без симптомов ПА, n=185, средний возраст $8,83 \pm 1,12$ лет).

С целью изучения пищевой сенсibilизации проводили кожное аллeрготестирование (ALK-Abelló, Испания), а также оценивали уровень общего и специфического IgE сыворотки крови методом ImmunoCAP (Phadia, Швеция) [102].

В ходе проведенного исследования установлено, что наличие хронической инвазии *Opisthorchis felinus* ассоциировано со снижением вероятности развития пищевой сенсibilизации у детей по результатам определения уровня специфического IgE в сыворотке крови (OR=0,53; 95% CI 0,31–0,88; p=0,01), а также по результатам КПТ (OR=0,34; 95% CI 0,17–0,65; p=0,01). При этом у больных хроническим описторхозом отмечено достоверное снижение кожной реактивности к гистамину: средний диаметр папулы составил $3,74 \pm 0,06$ мм в сравнении с $3,53 \pm 0,07$ мм у детей, не имеющих описторхозной инвазии (p=0,03).

Показано также, что у инвазированных детей отмечен достоверно более низкий средний уровень специфического IgE к ряду аллeргенов: фундук ($11,97 \pm 7,62$ кЕдА/л против $27,65 \pm 5,04$ кЕдА/л; p=0,04), яблоко ($0,59 \pm 0,21$ кЕдА/л против $4,85 \pm 1,19$ кЕдА/л; p=0,01), персик ($0,74 \pm 0,28$ кЕдА/л против $3,80 \pm 1,13$ кЕдА/л, p=0,01), грецкий орех ($0,65 \pm 0,36$ кЕдА/л против $2,12 \pm 1,30$ кЕдА/л, p=0,04).

Предполагается, что более редкое развитие сенсibilизации в группе больных хроническим описторхозом обусловлено регулирующим влиянием гельминтной инвазии на течение аллeргического воспаления. Установлено, что на

фоне паразитарной инвазии активируется комплекс супрессорных механизмов, влияющих на активность эффекторных клеток, пролиферацию Т-регуляторных клеток, синтез различных цитокинов, что приводит к снижению продукции IgE [12, 8, 13, 9]. В ходе исследования на мышах показано, что введение секреторно-экскреторных продуктов *Heligmosomoides polygyrus* параллельно с сенсibiliзирующей дозой овалбумина вызывает снижение секреции IL-5, уровня эозинофилов и синтеза IgE [162]. Антигены *Strongyloides ratti* могут связываться с моноцитами, макрофагами и клетками кишечного эпителия, стимулируя повышение синтеза IL-10 [159]. Установлено снижение активности базофилов и способности к IgE-стимуляции у мышей, имеющих хроническую инвазию *Litomosoides sigmodontis* и *Schistosoma mansoni* [69].

Также проведен ряд экспериментальных исследований в отношении влияния инвазии *Opisthorchis felineus* на развитие аллергического воспаления. При аллергических заболеваниях, протекающих на фоне описторхозной инвазии, отмечается супрессия Th2-зависимого иммунного ответа, что выражается в повышении уровня противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β , а также снижении экспрессии генов цитокинов Th2-профиля: IL-4 и IL-5 [8]. Активация указанных механизмов приводит к снижению продукции специфического IgE плазмócитами. Модулирующее воздействие хронической инвазии на иммунный ответ также опосредуется влиянием на пролиферацию Т-регуляторных клеток. Так, установлено, что при аллергических заболеваниях на фоне описторхозной инвазии отмечается повышение количества Т-регуляторных клеток CD4⁺CD25^{high}, при этом, дегельминтизация приводит к снижению данной клеточной субпопуляции [13].

Проведенное нами исследование позволило установить, что наименьший риск развития пищевой сенсibiliзации ассоциирован с наличием высокой интенсивности хронической описторхозной инвазии по результатам КПТ (OR=0,21; 95% CI 0,07–0,57; p=0,01), а также по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови (OR=0,46; 95% CI 0,24–0,91; p=0,02). Представленные результаты позволяют предположить дозозависимый эффект

антигенного влияния трематод на регуляцию иммунного ответа. Вероятно, супрессивный механизм регуляции аллергического воспаления запускается стимуляцией высокими дозами антигенов гельминта.

Исследование влияния гельминтной инвазии различной интенсивности на развитие специфической сенсибилизации – малоизученный аспект; в настоящее время исследования подобной тематики немногочисленны. Так, доступны результаты проведенного в Зимбабве исследования сенсибилизации к аллергену клеща домашней пыли в группах пациентов с высокой ($n=365$) и низкой ($n=307$) интенсивностью инвазии *Schistosoma haematobium*. Установлена негативная ассоциация интенсивности инвазии с кожной реактивностью и уровнем специфического IgE к клещу домашней пыли в группе пациентов с высокой интенсивностью инвазии. Однако, в группе пациентов с низкой интенсивностью инвазии подобной зависимости не отмечено [57]. Вероятно, влияние гельминтной инвазии является количественно-опосредованным: подтверждением тому служат результаты другого исследования, которые демонстрируют, что высокая интенсивность инвазии *Schistosoma haematobium* ассоциирована с более высоким уровнем антител к гельминтным антигенам [46, 57].

С другой стороны, проведенное в Шри-Ланке обследование детей возрасте 9 – 11 лет ($n=640$) не выявило значимой ассоциации нематодозов (аскаридоз, трихоцефалез) и развития аллергических заболеваний. Авторы исследования связывают данный результат с низкой интенсивностью инвазии данными гельминтами [116].

В рамках настоящего исследования установлено, что высокая интенсивность описторхозной инвазии сопряжена с более высокими показателями общего IgE сыворотки, как при наличии пищевой сенсибилизации, так и без таковой (таблица 17 страница 95). В предшествующих исследованиях показано, что протективный эффект гельминтной инвазии ассоциирован с высвобождением из плазматических клеток большого количества поликлонального IgE [140, 147]. Таким образом, повышение содержания общего IgE в сыворотке крови больных с пищевой сенсибилизацией на фоне описторхоза обусловлено не только

повышением уровня специфических IgE к пищевым аллергенам, но и усилением продукции поликлональных IgE. Последние связывают IgE-рецепторы на тучных клетках, блокируя их для соединения со специфическими антителами, что может подавлять специфический иммунный ответ («блоковая» гипотеза).

Таким образом, на фоне опистхозной инвазии высокой интенсивности, с одной стороны, отмечается подавление специфического иммунного ответа, которое проявляется в виде снижения уровня специфического IgE, снижения кожной реактивности при проведении КПТ, с другой стороны – повышение продукции поликлонального IgE. Проведенные исследования Graves P. E. и Marsh D.G. показали, что синтез поликлональных и специфических антител может регулироваться отдельно друг от друга в разных участках генома [45, 124]. Очевидно, гельминтные антигены могут регулировать иммунный ответ, усиливая продукцию поликлонального IgE и снижая синтез специфического IgE.

Аналогичные результаты получены в исследовании с участием больных, у которых, несмотря на высокий уровень общего IgE, регистрировались низкие показатели специфического IgE. Так, в исследовании, проведенном у детей 9–11 лет, страдающих гельминтозами (аскаридозом, трихоцефаллезом), установлено, что соотношение специфического IgE к уровню общего IgE выше у неинфицированных детей, по сравнению с детьми, страдающими гельминтными инвазиями [116]. В исследовании с участием 1445 детей в возрасте 4 – 11 лет, установлено, что наличие антител IgG к токсокарам позитивно ассоциировано с эозинофилией, повышением общего IgE, но негативно ассоциировано с кожной реактивностью по результатам КПТ. Снижение кожной реактивности, возможно, связано с повышением продукции поликлонального IgE [174].

Регулирующее влияние на синтез IgE оказывают также CD23 – низкоафинные рецепторы IgE на поверхности В-лимфоцитов. С одной стороны показано, что у детей инвазированных *Ascaris lumbricoides* отмечается повышение продукции CD23, при этом данный показатель положительно коррелирует с уровнем общего IgE и содержанием антител к аскаридам в сыворотке крови. Таким образом, предполагается, что повышение продукции общего IgE

стимулируется повышенной выработкой низкоафинных рецепторов CD23 на фоне инвазии аскаридами [149]. С другой стороны, установлено, что после расщепления мембранной формы рецептора CD23 образуются мономерные фрагменты, способные ингибировать продукцию специфического IgE плазмочитами. Наличие гельминтной инвазии может приводить к повышению свободного CD23 в сыворотке крови и таким образом ингибировать образование специфического IgE. Исследование с участием пациентов, зараженных *Schistosoma haematobium* (n=434), показало, что уровень свободного CD23 повышается соответственно возрастанию интенсивности гельминтной инвазии, при этом негативно коррелирует с уровнем специфического IgE к клещу домашней пыли [158].

Изучение факторов риска формирования пищевой сенсibilизации

Формирование пищевой сенсibilизации – сложный процесс, на который оказывает влияние множество факторов, как средовых, так и генетических. В настоящее время накоплен целый ряд данных эпидемиологических и клинических исследований о протективных факторах и факторах риска развития различных аллергических заболеваний. Наличие аллергических заболеваний, таких как АД и БА у родителей, сопряжено с более высокой вероятностью развития аллергических заболеваний у ребенка [148, 169, 93]. По данным исследования, проведенного в США, наличие пищевой сенсibilизации чаще регистрируется у городских жителей, по сравнению с проживающими в провинции [98]. В нескольких исследованиях установлено, что протективным фактором является присутствие домашних животных в семье [62, 82, 156].

Результаты данного исследования показали, что в группе детей, не имеющих описторхозной инвазии, факторами риска развития пищевой сенсibilизации являются наличие аллергических заболеваний у родителей (OR=1,89; 95% CI 1,18–3,01; p=0,01), мужской пол (OR=1,89; 95% CI 1,19–3,00; p=0,01), проживание в городских условиях (OR=2,05; 95% CI 1,37–3,05; p=0,01). Однако, даже при наличии наследственной предрасположенности в группе

больных хроническим описторхозом пищевая сенсibilизация отмечается реже, чем у детей, не имеющих инвазии (10,31% и 26,36% соответственно, OR=0,31; 95% CI 0,12–0,80; p=0,01). Также, протективное действие описторхозной инвазии сохраняется при наличии такого внешнесредового фактора риска, как проживание в городе. Так, у городских школьников на фоне хронической описторхозной инвазии развитие пищевой сенсibilизации диагностируется реже, чем у неинвазированных школьников (17,24% и 24,71% соответственно, OR=0,38; 95% CI 0,15–0,97; p=0,01). Как уже было отмечено выше, в группе детей, не имеющих гельминтной инвазии, среди девочек отмечается меньший риск развития пищевой сенсibilизации по сравнению с мальчиками. Однако, при наличии хронического описторхоза сенсibilизация развивается с одинаковой частотой, как у мальчиков, так и у девочек (11,97% и 11,81%, соответственно, OR=1,03; 95% CI 0,44–2,42; p=0,94).

Исследование пищевой сенсibilизации с использованием компонентной аллергодиагностики (результаты 3 этапа)

С целью верификации ведущего типа пищевой сенсibilизации спланирован третий этап – одномоментное исследование «случай-контроль», в ходе которого проведена компонентная аллергодиагностика оценка специфического IgE к отдельным белковым компонентам пищевых аллергенов (ImmunoCAP, Phadia, Швеция) [128].

Молекулярный аллергологический анализ выполнялся у лиц, имеющих пищевую сенсibilизацию по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови, и у несенсибилизированных пациентов, выбранных рандомизированным образом. Проведено исследование специфического IgE к аллергену пыльцы березы Bet v1 и основным пищевым аллергенам – ведущим для нашего географического региона [38, 18]:

– класс I: Сур с1 – рыба; Gal d 2 – куриное яйцо; Bos d5 – коровье молоко; Ara h1, Ara h2/6, Arah3/4 – арахис; Cor a8, Cor a11 – фундук; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко;

– класс II: Pru p1 – персик; Mal d1 – яблоко; Ara h8 – арахис; Cor a1 – фундук.

Результаты компонентной аллергодиагностики позволили установить, что сенсibilизация к аллергенам класса I регистрируется с одинаковой частотой в исследуемых группах. Подобные различия могут быть связаны с особенностями формирования сенсibilизации к аллергенам различных классов. Так, развитие ПА к аллергенам класса I (Сур с1 – рыба; Gal d 2 – куриное яйцо; Bos d5 – коровье молоко) происходит преимущественно, в первые три года жизни [8, 24, 25]. Инвазирование *Opisthorchis felineus* происходит, как правило, в более позднем возрасте, когда ребенок приобщается к рыбному промыслу, пищевым привычкам семьи (употребление термически необработанной рыбы). Так, согласно результатам предшествующих исследований, пораженность описторхозом у детей до 3-х лет составляет $8,88 \pm 0,30$ на 1000 детей, максимум инвазирования наблюдается у детей 7 – 14 лет ($61,61 \pm 0,6$ на 1000 детей) [2, 43]. В этой связи, протективное влияние гельминтной инвазии в отношении развития сенсibilизации наиболее ожидаемо в старшей возрастной группе.

Показано, также, что у детей, не имеющих хронического описторхоза, преобладает сенсibilизация к термолабильным аллергенам класса II, гомологам аллергена березы Bet v1: яблоку (Mal d1), персику (Pru p1), арахису (Ara h8), фундуку (Cor a1). Установлено, что сенсibilизация к пищевым белкам, имеющим молекулярное сходство с аллергеном Bet v1 (Mal d1, Pru p1, Cor a1, Ara h8), отмечена у 22,65% детей, не имеющих описторхоза, против 2,32% школьников с хроническим описторхозом (OR=0,08; 95% CI 0,01–0,59; p=0,01).

Как показано ранее, в ходе второго этапа исследования в группе больных хроническим описторхозом отмечено более редкое формирование сенсibilизации к растительным аллергенам: фундуку (7,86% против 3,36%; p=0,04), персику (7,45% против 2,52%; p=0,04), яблоку (7,25% против 2,52%; p=0,04). Результаты третьего этапа подтверждают полученные результаты и позволяют установить, что более редкое развитие сенсibilизации к указанным аллергенам происходит по причине низкой частоты формирования

сенсibilизации к входящим в их состав термолабильным белкам класса II (Cor a1, Pru p1, Mal d1).

Поскольку пыльцевая сенсibilизация и последующее развитие гиперчувствительности к аллергенам класса II по механизму перекрестной реактивности происходит, главным образом, в школьном возрасте, именно указанный тип сенсibilизации подвержен down-регуляции на фоне хронической описторхозной инвазии. Так, в настоящем исследовании установлено, что по данным КПТ и оценки специфического IgE в сыворотке крови, у больных описторхозом статистически значимо реже по сравнению с неинвазированными лицами, проживающими в одном географическом регионе, регистрируется сенсibilизация к аллергену березы (4,22% и 8,67%, соответственно, $p=0,01$). Очевидно, на фоне хронической описторхозной инвазии снижается вероятность формирования сенсibilизации к аэроаллергенам, включая пыльцевой аллерген березы, что опосредованно приводит к более редкому развитию сенсibilизации к гомологичным пищевым аллергенам. При этом, в случае пыльцевой сенсibilизации у больных хроническим описторхозом реже развивается перекрестная сенсibilизация к гомологичным пищевым аллергенам. Так, в группах детей, сенсibilизированных к Bet v1, перекрестная реактивность к пищевым аллергенам класса II (Mal d1, Pru p1, Cor a1, Ara h8) составила 82,86% для неинвазированных лиц против 25% больных описторхозом (OR=0,07; 95% CI 0,01–0,99; $p=0,04$).

В целом, проведенная компонентная алергодиагностика позволила установить, что у больных хроническим описторхозом сенсibilизация по механизму перекрестного реагирования формируется значительно реже и ведущим является гастроинтестинальный путь развития гиперчувствительности к пищевым аллергенам.

Особенности клинических симптомов пищевой аллергии в зависимости от наличия хронического описторхоза (результаты этапа 2, 3)

Приоритетной задачей проведенного исследования являлось изучение особенностей клинического течения пищевой аллергии у детей, имеющих

сенсibilизацию к различным пищевым аллергенам в зависимости от наличия хронического описторхоза.

Анализ особенностей клинического течения ПА на фоне хронической описторхозной инвазии в исследуемых группах проводили с использованием «Клинического вопросника пищевой аллергии у детей», прошедшего адаптацию и валидизацию [165]. Так, установлено, что на фоне хронической описторхозной инвазии чаще, чем у неинвазированных детей отмечалось поражение желудочно-кишечного тракта, которое характеризовалось симптомами тошноты (31,25 % и 15,17%, соответственно $p=0,01$), вздутия кишечника (20,31% и 8,68%, соответственно, $p=0,01$). Реже диагностировались эритематозные поражения кожи (47,65% против 65,27%, $p=0,01$), жизнеугрожающие реакции и связанные с ними медицинские вмешательства (ингаляция кислорода, использование адреналина в сравнении с неинвазированными детьми, однако, различия не достигали статистической значимости в связи с малочисленностью групп (5,46% и 9,32%, соответственно, $p=0,18$).

Ранее исследовательским коллективом СибГМУ получены данные, свидетельствующие о модификации клинического течения аллергических болезней на фоне хронического описторхоза [44, 3]. Так, установлено, что АР и АД, протекающие на фоне хронической описторхозной инвазии, характеризуются меньшей выраженностью клинических проявлений [44, 3]. Среди пациентов, страдающих БА в сочетании с хроническим описторхозом, отмечается снижение бронхиальной гиперреактивности, а также более высокие значения объема форсированного вдоха за первую секунду и пиковой скорости выдоха в сравнении с детьми, не имеющими инвазии. При этом, через шесть месяцев после дегельминтизации возрастала потребность в увеличении объема базисной терапии БА [12].

Принимая во внимание, что аллергены различных классов ПА обладают разными физико-химическими и, как следствие, аллергенными свойствами, в работе проанализированы клинические проявления ПА с учетом результатов компонентной алергодиагностики. Наиболее важное значение данного

диагностического метода связано с возможностью идентификации предикторов тяжелых жизнеугрожающих состояний у больных ПА [178, 93]. Такой риск может быть обусловлен наличием сенсibilизации к ряду аллергенов класса I (Cup s1, Ara h2, Cor a9), способных сохранять целостность и устойчивость IgE-связывающих эпитопов при термической обработке и протеолизе, и при проникновении через кишечную стенку в интактном виде вызывать системные аллергические реакции, сопровождающиеся выбросом медиаторов воспаления и развитием анафилактических реакций [145, 111, 121, 81, 59].

Так, установлено, что у детей, не имеющих описторхоза, сенсibilизация к термостабильным аллергенам класса I (Cup s1 – рыба; Gal d 2 – куриное яйцо; Bos d5 – коровье молоко; Ara h1, Ara h2/6, Ara h3/4 – арахис; Cor a8, Cor a11 – фундук; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко) ассоциирована с поражением кожи в виде уртикарий, зудящих эритематозных и папулезных высыпаний (OR=15,83; 95% CI 4,76–54,98; p=0,01); гастроинтестинальными симптомами (OR=8,05; 95% CI 1,64–41,08; p=0,01). Отмечена достоверная ассоциация сенсibilизации к пищевым аллергенам класса I с развитием жизнеугрожающих состояний (бронхообструктивный синдром, ларингоспазм, отек Квинке, анафилактический шок, артериальная гипотензия, синкопальные состояния (OR=8,16; 95% CI 1,89–36,30; p=0,01). В группе больных хроническим описторхозом сенсibilизация к аллергенам класса I сопряжена с гастроинтестинальными проявлениями (OR=16,5; 95% CI 1,71–204,42; p=0,01) и кожными симптомами (OR=20,40; 95% CI 1,38–637,12; p=0,01), при этом, статистически значимой взаимосвязи с ургентными состояниями не отмечено (OR=5,5; 95% CI 0,43–73,33; p=0,01).

Согласно результатам исследования, у детей, не имеющих описторхоза, риск развития жизнеугрожающих состояний ассоциирован с наличием сенсibilизации к аллергенам Cup s1 – рыба (OR=22,10; 95% CI 4,34–123,00; p=0,01), Gal d2 – куриное яйцо (OR=43,50; 95% CI 3,34–1231,96; p=0,01), Ara h1 – арахис (OR=25,78; 95% CI 1,15–468,66; p=0,01), Cor a8 (OR=25,78; 95% CI 1,15–468,66; p=0,01), Cor a11 – фундук (OR=12,71; 95% CI 1,11–150,89; p=0,03), Pru p3 – персик (OR=12,71; 95% CI 1,11–150,89; p=0,03). Для больных хроническим

описторхозом основным потенциально опасным аллергеном является парвальбумин рыбы – Сур с1 (OR=38,00; 95%CI 1,56–196; p=0,01).

Влияние гельминтозов на особенности клинического течения при сенсibilизации к пищевым аллергенам класса I оценивалось в экспериментальных исследованиях. Установлено, что инвазия *Schistosoma mansoni* приводит к подавлению овальбумин-индуцированного воспаления верхних дыхательных путей у мышей. При этом, данный эффект не сохраняется после антигельминтной терапии [151]. Показано также, что инвазия *Schistosoma mansoni* приводит к снижению риска развития анафилактических реакций у сенсibilизированных мышей за счет повышенной продукции IL-10 В-клетками [146]. В экспериментальном исследовании у мышей, сенсibilизированных к арахису, также отмечается более редкое формирование анафилактических реакций при повторном употреблении арахиса. Авторы исследования связывают подобный эффект со снижением образования специфических IgE к арахису [53].

Формирование пищевой толерантности на фоне хронической описторхозной инвазии

Течение ПА к некоторым продуктам, к таким как коровье молоко, куриное яйцо, может сопровождаться постепенным формированием толерантности. При аллергии к белкам коровьего молока у 51% пациентов развивается толерантность к двум годам, а в возрасте 3 – 4 лет формирование толерантности отмечается у 80% [168]. Толерантность к белкам куриного яйца наблюдается у меньшей части больных, развивается к 5 годам и позднее, что зависит от наличия поливалентной сенсibilизации, соблюдения элиминационной диеты и ряда других факторов [167]. В рамках данного исследования предпринята попытка провести изучение развития пищевой толерантности в исследуемых группах. С этой целью использовались разделы вопросника, позволяющие оценить возраст, в котором отмечались последние симптомы ПА к куриному яйцу и коровьему молоку.

Согласно полученным данным, развитие пищевой толерантности к коровьему молоку к возрасту 7 – 10 лет отмечалось у 66,45% детей, не имеющих

описторхоза и 77,05% больных хроническим описторхозом (OR=1,69; CI 0,82–3,55; p=0,12).

В отношении симптомов ПА к куриному яйцу установлено более частое развитие толерантности к школьному возрасту у больных хроническим описторхозом. Так, у 47,05% больных описторхозом в возрасте 7 – 10 лет, имевших симптомы ПА к куриному яйцу, отмечается отсутствие клинических проявлений в течение двух лет и более. При этом, у детей, не имеющих описторхозной инвазии, данный показатель составляет 18,81% (p=0,01, OR=4,30 CI 1,73–10,81).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что у большинства детей с симптомами ПА к коровьему молоку отмечено развитие пищевой толерантности независимо от наличия описторхозной инвазии на момент участия в исследовании. Известно, что толерантность к коровьему молоку развивается у большинства детей к 3 – 4 годам [179, 101]. Напротив, инвазирование описторхисами происходит, как правило, в старшей возрастной группе, т.е. значительно позже формирования толерантности.

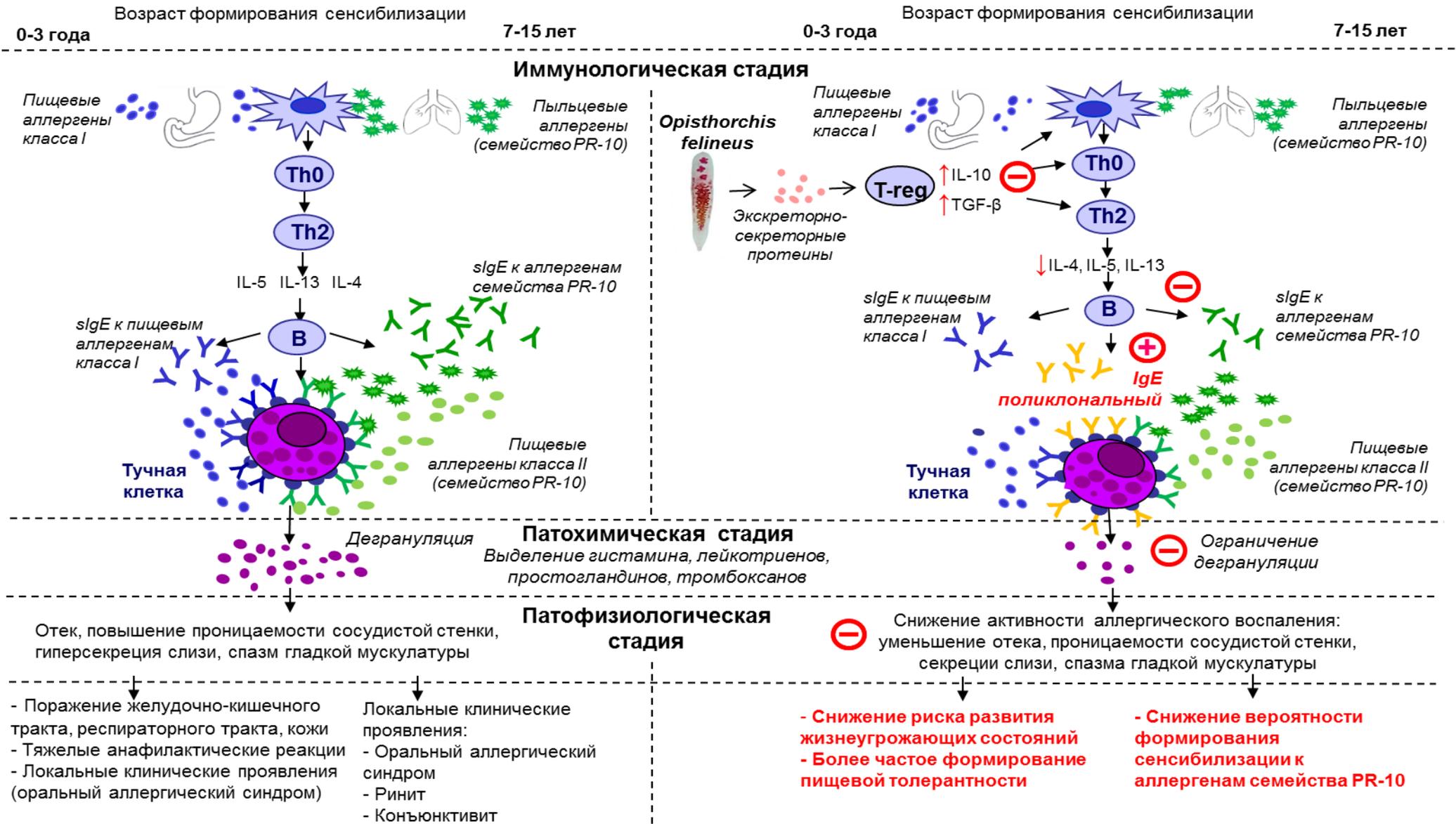
Для аллергии к белкам куриного яйца характерно более позднее становление толерантности – к 5 – 7 годам и позднее [101, 167]. В настоящем исследовании показано, что вероятность формирования пищевой толерантности к белкам куриного яйца выше на фоне хронической описторхозной инвазии. Согласно данным экспериментальных и клинических исследований, проведенных в отношении механизмов оральной толерантности, установлено, что повторные оральные введения низких доз антигена индуцируют регуляторные Т-клетки к продукции TGF- β и IL-10 и последующей супрессии Th-2 зависимого ответа [90, 95, 65]. Как показано ранее, регуляторное влияние описторхозной инвазии также опосредуется активацией синтеза указанных цитокинов [127, 104]. Иммунологические механизмы формирования толерантности аналогичны механизмам супрессивного действия хронической описторхозной инвазии, что в значительной мере объясняет более частое развитие пищевой толерантности у больных хроническим описторхозом.

Таким образом, в рамках проведенного фундаментального эпидемиологического исследования в выборке детей в возрасте 7 – 10 лет с использованием молекулярного аллергологического анализа получены новые данные о закономерностях развития сенсibilизации к пищевым аллергенам и особенностях клинического течения ПА на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felinus*. Установлено снижение вероятности развития пищевой сенсibilизации у инвазированных лиц, прежде всего, к термолабильным белкам семейства PR-10 – Cor a1, Pru p1, Mal d1 (иммунологическая стадия аллергического воспаления; рисунок 18). На фоне хронической описторхозной инвазии происходит инициация ряда супрессорных механизмов, приводящих к подавлению образования специфического IgE к пыльцевым аллергенам, а также к более редкому развитию перекрестной реактивности к гомологичным пищевым белкам. Снижение специфической сенсibilизации сопровождается усилением продукции поликлонального IgE. Поликлональные антитела связывают рецепторы к IgE на тучных клетках, блокируя их для соединения со специфическими антителами и подавляя специфический иммунный ответ. При этом, наименьший риск развития сенсibilизации ассоциирован с высокой интенсивностью инвазии.

Настоящее исследование не продемонстрировало ассоциации хронической инвазии *Opisthorchis felinus* со снижением вероятности сенсibilизации к аллергенам класса I у детей школьного возраста. Следует учитывать, что формирование сенсibilизации к данному классу аллергенов наблюдается в раннем детском возрасте, вне рамок данного исследования, в то время как инвазирование описторхисами происходит в большинстве случаев в возрасте старше трех лет.

Развитие типовой аллергической реакции

Развитие аллергической реакции на фоне инвазии *Opisthorchis felineus*



sglE – специфический IgE
 Пищевые аллергены класса I: *Cup s1*-рыба; *Gal d 2*-куриное яйцо; *Bos d5*-молоко; *Ara h1*, *Ara h2/6*, *Arah3/4*-арахис; *Cor a8*, *Cor a11* – фундук; *Pru p3* – персик; *Mal d3* –яблоко
 Пищевые аллергены класса II: *Pru p1* – персик; *Mal d1* – яблоко; *Ara h8* – арахис; *Cor a1* – фундук

Рисунок 18. Схема иммунного ответа при аллергии на фоне инвазии *Opisthorchis felineus*

Однако, для детей исследуемой возрастной группы установлено более частое формирование толерантности к белкам куриного яйца (потенцирование естественного механизма развития пищевой толерантности), а также снижение риска развития жизнеугрожающих состояний что связано с повышением синтеза регуляторных цитокинов IL-10 и TGF- β .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпидемиологические исследования, проведенные в различных регионах мира, свидетельствуют о влиянии распространенности гельминтных инвазий на подверженность населения эндемичных регионов аллергическим заболеваниям. Однако за рамками данной гипотезы осталось понимание механизмов формирования сенсibilизации, составляющей основу развития аллергических заболеваний. В ходе настоящего исследования получены эпидемиологические данные о закономерностях развития сенсibilизации к пищевым аллергенам и особенностях клинического течения пищевой аллергии в зависимости от наличия и интенсивности хронической инвазии *Opisthorchis felinus*. Установлено, что инвазия *Opisthorchis felinus* приводит к снижению риска развития пищевой сенсibilизации, при этом протективное влияние описторхоза определяется высокой интенсивностью инвазии. Более редкое развитие пищевой сенсibilизации лежит в основе снижения распространенности пищевой аллергии на фоне инвазии *Opisthorchis felinus* и определяет меньшую выраженность клинических проявлений. Полученные данные послужат теоретической основой для последующих научных исследований и позволят оптимизировать диагностику пищевой сенсibilизации у детей.

На основании выполненного исследования сделаны следующие выводы:

1. По результатам количественной диагностики с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* у детей 7 - 10 лет в г. Томске составила 16,29%, в сельских районах с высокой распространенностью описторхоза - 48,08%, в сельских районах с низкой распространенностью гельминтной инвазии - 33,5%. Высокая

интенсивность инвазии наиболее часто диагностируется в сельских районах с высокой и низкой распространенностью описторхоза в сравнении с выборкой г. Томска (63,2%, 55,9%, 22,73%, соответственно).

2. Наличие хронической инвазии *Opisthorchis felineus* ассоциировано со снижением риска развития пищевой сенсibilизации по результатам кожного аллерготестирования и по результатам оценки уровня специфического IgE в сыворотке крови. По данным логистического регрессионного анализа хроническая инвазия *Opisthorchis felineus* высокой интенсивности сопряжена со снижением риска развития пищевой сенсibilизации. Повышение уровня общего IgE сыворотки крови у детей с пищевой сенсibilизацией имеет статистически значимую линейную зависимость от интенсивности хронической инвазии *Opisthorchis felineus*.
3. При пищевой аллергии, протекающей на фоне хронической описторхозной инвазии, чаще, чем у неинвазированных детей, регистрируются поражения желудочно-кишечного тракта, реже диагностируются эритематозные поражения кожи. Также отмечается повышение вероятности развития оральной толерантности к куриному яйцу у детей, больных пищевой аллергией, в возрасте 7-10 лет (47,05% и 18,81%, соответственно, OR=4,30 95% CI 1,73-10,81 p=0,01).
4. Сенсibilизация к пищевым аллергенам класса I (Сур с1– рыба; Gal d 2 - куриное яйцо; Bos d5 – коровье молоко; Ara h1, Ara h2/6, Ara h3/4 – арахис; Cor a8, Cor a11 – фундук; Pru p3 – персик; Mal d3 – яблоко) у больных хроническим описторхозом и неинвазированных лиц ассоциирована с поражением кожи и гастроинтестинальными симптомами; для детей, не имеющих инвазии, характерна подверженность развитию жизнеугрожающих состояний. Сенсibilизация к аллергенам класса II (Mal d1 – яблоко, Pru p1 - персик, Cor a1 - фундук, Ara h8 – арахис) в группе детей, не имеющих инвазии *Opisthorchis felineus*, регистрируется чаще, чем у больных хроническим описторхозом (22,65% и 2,32%, соответственно, p=0,01; OR=0,08; 95%CI 0,01-0,59), в том числе у лиц, сенсibilизированных к аллергену пыльцы березы Bet v1 (82,86%

и 25% соответственно, $p=0,04$; $OR=0,07$; 95% CI 0,01-0,99), и связана с развитием орального аллергического синдрома.

5. Диагностическим маркером высокого риска развития анафилаксии у детей, не имеющих хронического описторхоза, является сенсibilизация к аллергенам: Сур с1 (рыба), Gal d2 (куриное яйцо), Ara h1(арахис), Cor a8, Cor a11 (фундук), Pru p3 (персик); у пациентов, страдающих хроническим описторхозом-сенсibilизация к парвальбумину рыбы - Сур с1.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. При планировании эпидемиологических исследований в регионах, эндемичных по инвазии *Opisthorchis felineus*, следует учитывать низкую распространенность пищевой сенсibilизации и ее ассоциацию с интенсивностью гельминтной инвазии.
2. Для оценки прогноза клинического течения ПА у детей в регионах, эндемичных по описторхозной инвазии, следует использовать компонентную аллергодиагностику (ImmunoCAP, Phadia).
3. По результатам компонентной аллергодиагностики наличие сенсibilизации к аллергенам класса I (Сур с1 – рыба, Gal d2 – куриное яйцо, Ara h1 – арахис, Cor a8, Cor a11 – фундук, Pru p3 – персик) может быть использовано как маркер риска развития жизнеугрожающих состояний у детей, не имеющих описторхоза. Для больных хроническим описторхозом предиктором тяжелых анафилактических реакций является аллерген Сур с1 – рыба (ImmunoCAP, Phadia).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – атопический дерматит

АР – аллергический ринит

АСИТ – аллерген–специфическая иммунотерапия

БА – бронхиальная астма

ГКС – глюкокортикостероиды

ГКГС - главный комплекс гистосовместимости

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДС – диагностическая специфичность

ДЧ – диагностическая чувствительность

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ЖКТ – желудочно–кишечный тракт

ИРК – индивидуальная регистрационная карта

КПТ – кожное прик–тестирование

ЛТП – липид–трасферные протеины

МУЗ - муниципальное учреждение здравоохранения

ОАС – оральная аллергический синдром

ОГБУЗ - областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения

ОП – отношение правдоподобия

ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду выдоха

ПА – пищевая аллергия

ПСВ – пиковая скорость выдоха

ПЦР – полимеразная цепная реакция

AUC – area under curve, показатель клинической значимости теста в процессе

ROC – анализа

CD – cluster of differentiation, поверхностный маркер лейкоцитов

CD23 – низкоафинный рецептор IgE

CD4⁺CD25^{high} – естественные Т–регуляторные клетки с высокой экспрессией маркера CD25

CI – confidence interval, доверительный интервал

Ct – cycle threshold, количество циклов, необходимое для достижения порогового уровня флюоресценции в ходе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

FOXP3 – forkhead box P3, транскрипционный фактор

IFN – интерферон

Ig – иммуноглобулин

IL – интерлейкин

OR – odds ratio, отношение шансов

PR-белки – pathogenesis-related proteins, белки защиты

ROC-анализ – Receiver operating characteristic, показывает зависимость количества верно классифицированных положительных исходов (чувствительность) от количества неверно классифицированных отрицательных исходов (1–специфичность).

SCORAD – scoring atopic dermatitis, шкала оценки степени тяжести атопического дерматита

TGF – трансформирующий фактор роста

Th – Т-хелпер

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аллергология и иммунология: руководство / под ред. А.А. Баранов, Р.М. Хаитов. – М. : Союз педиатров России, 2010. – 248 с.
2. Балашева, И.И. Особенности течения и терапии описторхоза у детей / И.И. Балашева, З.Г. Миронова. – Томск : Издательство Томского Университета. – 1990. – 152 с.
3. Белоногова, Е.Г. Клинико-эпидемиологическая характеристика аллергического ринита и особенности регуляции атопического воспаления у школьников в гиперэндемичном очаге *O.felineus* : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Г. Белоногова. – Томск, 2012. – 22 с.
4. Бочарова, Т.П. Циркуляция возбудителя описторхоза в районе р. Чулым (бассейн р. Обь) / Т.П. Бочарова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2009. – № 8. – С. 33–38.
5. Бронштейн, А.М. Гельминтозы органов пищеварения: кишечные нематодозы, трематодозы печени и ларвальные цестодозы (эхинококкозы) / А.М. Бронштейн, Н.А. Малышев // Русский медицинский журнал. – 2004. – Т. 12, № 4. – Р. 21–23.
6. Бычков, В.Г. Описторхоз в Обь-Иртышском бассейне (Вопросы этиологии и патогенеза) / В.Г. Бычков, Г.Г. Крылов, А.О. Плотников // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2007. – № 4. – С. 1–6.
7. Влияние аллергенспецифической иммунотерапии на течение сочетанных проявлений поллинозов и пищевой аллергии у детей и подростков / И.И. Балаболкин, О.Б. Соснина, Л.Д. Ксензова и др. // Педиатрия. – 2010. – Т. 89, № 4. – С. 23–28.
8. Влияние инвазии *Opisthorchis felineus* на иммунный ответ при бронхиальной астме / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, А.Э. Сазонов и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 85–90.

9. Деев, И.А. Особенности регуляции апоптоза эозинофилов при бронхиальной астме у детей, сочетанной с инвазией *Opisthorchis felinus* / И.А. Деев // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2011. – Т. 3, № 3. – С. 15–19.
10. ДНК-диагностика микст-инвазий *Opisthorchis felinus* и *Metorchis bilis* с помощью метода ПЦР / Н.А. Колчанов, Л.М. Огородова, О.С. Федорова и др. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2010. – № 2. – С. 10–13.
11. Дыбунова, Е.Л. Влияние экологических факторов на распространенность и течение аллергических заболеваний у детей / Е.Л. Дыбунова, А.А. Модестов // Новые технологии в современном здравоохранении. – М., 2007. – Т. 1. – С. 191–194.
12. Евдокимова, Т.А. Влияние хронической описторхозной инвазии на клиническое течение и иммунный ответ при атопической бронхиальной астме у детей / Т.А. Евдокимова, Л.М. Огородова // Педиатрия. – 2005. – № 6. – С. 74–72.
13. Елисеева, О.В. Клеточный иммунный ответ у детей, страдающих бронхиальной астмой в сочетании с хронической описторхозной инвазией / О.В. Елисеева, Е.Э. Кремер, Л.М. Огородова // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 15–19.
14. Иванчук, И.И. Роль интерлейкина–5 в механизмах апоптотической гибели эозинофилов периферической крови больных бронхиальной астмой / И.И. Иванчук, А.Э. Сазонов, Ф.И. Петровский // Бюллетень сибирской медицины. – 2003. – № 2. – С. 38–43.
15. Изучение распространенности аллергической патологии и описторхозной инвазии и их взаимосвязи у населения Томской области / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, А.Э. Сазонов и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 48–51.
16. Ильинских, Е.Н. Актуальные вопросы изучения проблемы описторхоза в Сибири / Е.Н. Ильинских // Бюллетень сибирской медицины. – 2002. – № 1. – С. 63–70.

17. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик ; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. – М. : Практическая медицина, 2011. – 480 с.
18. Камалтынова, Е.М. Распространенность, клинико-аллергологическая характеристика аллергических заболеваний у детей г. Томска и Томской области : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е.М. Камалтынова. – Томск, 2013. – 39 с.
19. Клиническая аллергология детского возраста с неотложными состояниями : руководство для врачей / под ред. И.И. Балаболкин, В.А. Булгакова. – М. : МИА, 2011. – 264 с.
20. Колупаев, В.Е. Преимущества метода ПЦР в реальном времени (Real Time PCR) / В.Е. Колупаев // Лабораторная медицина. – 2002. – № 5. – С. 110–112.
21. Лусс, Л.В. Пищевая аллергия и пищевая непереносимость: принципы диагностики и терапии / Л.В. Лусс, О.И. Сидорович, К.С. Успенская // Лечащий врач. – 2007. – № 4. – С. 16–20.
22. Макарова, С.Г. Роль кишечного микробиоценоза в формировании оральной толерантности у детей / С.Г. Макарова // Российский аллергологический журнал. – 2008. – № 2. – С. 32–46.
23. Метод выделения ДНК *O. Felineus* для выявления описторхоза / И.Н. Доминова, М.В. Патрушев, Л.М. Огородова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 6. – Р. 42–46.
24. Механизмы развития пищевой аллергии / Т.Э. Боровик, С.Г. Грибакин, С.Г. Макарова и др. // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 4. – С. 128–134.
25. Огородов, Л.М. Метод генетической диагностики описторхоза / Л.М. Огородова, И.В. Петрова, А.Э. Сазонов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 7. – С. 37–39.
26. Огородова, Л.М. Новые данные о согласованности кожного аллерготестирования к пищевым аллергенам с уровнем специфического иммуноглобулина Е и симптомами пищевой аллергии у детей в эндемичных

- по описторхозу очагах / Л.М. Огородова, О.С. Фёдорова, И.А. Деев // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т. 9, № 5. – С. 72–75.
27. Описторхозная инвазия. Основные подходы к терапии / М.Ф. Осипенко, Н.Н. Фролова, В.К. Чердынцева и др. // Российский медицинский журнал. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 72–75.
28. Паразитологические методы лабораторной диагностики гельминтозов и протозоозов: методические указания. МУК 4.2.735-99" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 25.02.1999). – М., 1999. – 52 с.
29. Пищевая аллергия и непереносимость пищевых продуктов / А.М. Ногаллер, И.С. Гуцин, В.К. Мазо, И.В. Гмошинский. – М. : Медицина, 2008. – 336 с.
30. Пищевая аллергия у детей: аспекты эпидемиологии и естественного течения / О.С. Федорова, Л.М. Огородова, О.В. Солодовникова // Педиатрия. – 2009. – № 2. – С. 116–125.
31. Потемкина, А.М. Диагностика и лечение аллергических заболеваний у детей / А.М. Потемкина. – Казань, 1990. – 319 с.
32. Распространённость гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* у детей в Томске и Томской области / Л.М. Огородова, И.А. Деев, О.С. Фёдорова и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 43–47.
33. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера. – 2002. – 312 с.
34. Сергеев, А.В. Аллергия к пищевым аллергенам растительного происхождения у больных поллинозом / А.В. Сергеев, М.А. Мокроносова // Аллергология. – 2002. – № 1. – С. 51–55.
35. Тарасова, И.В. Пищевая непереносимость, истинная пищевая аллергия и пищевые псевдоаллергические реакции: представление и методы диагностики / И.В. Тарасова // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2008. – № 3. – С. 24–28.
36. Тотолян, А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян, И.С. Фрейдлин. – СПб. : Наука, 2001. – Т. 2. – 390 с.

37. Трематода *Opisthorchis felinus* изменяет экспрессию цитокинов И-4, И-12, И-10, TGF- β и транскрипционных факторов С/ЕВР и Rel в макрофагах человека / М.Н. Львова, Е.В. Кашина, А.В. Катохин и др. // Паразитология в изменяющемся мире: материалы Всероссийской конференции с международным участием. – Новосибирск, 2013. – С. 111.
38. Федорова, О.С. Распространенность пищевой аллергии у детей в мировом очаге описторхоза / О.С. Федорова // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 5. – С. 102–107.
39. Федорова, О.С. Клинико-эпидемиологическая характеристика пищевой аллергии у детей в мировом очаге описторхоза : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / О.С. Федорова. – Томск, 2010. – 40 с.
40. Хавкин, А.И. Пищевая аллергия у детей: принципы профилактики / А.И. Хавкин, А.Н. Пампура, О.И. Герасимова // Лечащий врач. — 2004. – № 3. – С. 76–78.
41. Характеристика клеточного иммунного ответа в зависимости от интенсивности инвазии у больных хроническим описторхозом / Е.Н. Ильинских, Н.Н. Ильинских, И.Н. Ильинских // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 1. – С. 40–44.
42. Характеристика эпидемиологических и молекулярных взаимоотношений аллергических и гельминтных болезней в эндемическом очаге описторхоза / Л.М. Огородова, О.С. Федорова, М.Б. Фрейдин и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 37–43.
43. Хронический описторхоз и пищеварительная система / Э.И. Белобородова, М.И. Калюжина, Ю.А. Тиличенко и др. – Томск, 1996. – 116 с.
44. Эпидемиологические и клинические особенности атопического дерматита у детей, проживающих в регионе, эндемичном по описторхозу / Л.М. Огородова, Е.М. Камалтынова, И.А. Деев и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 50–53.
45. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children / P.E. Graves,

- M. Kabesch, M. Halonen et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2000. – Vol. 105. – P. 506–513.
46. A comparison of humoral responses to *Schistosoma haematobium* in areas with low and high levels of infection / F. Mutapi, P.D. Ndhlovu, P. Hagan et al. // *Parasite Immunol.* – 1997. – Vol. 19. – P. 255–263.
47. A follow-up study of *Opisthorchis viverrini* infection after the implementation of control program in a rural community, central Thailand / P. Suwannahitatorn, S. Klomjit, T. Naaglor et al. // *Parasit. Vectors.* – 2013. – Vol. 6. – P. 188.
48. Aalberse, R.C. Structural biology of allergens / R.C. Aalberse // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2000. – Vol. 106. – P. 228–238.
49. Al-Ahmed, N. Peanut Allergy: An Overview / N. Al-Ahmed, S. Alsowaidi, P. Vadas et al. // *As. Clin. Imm.* – 2008. – Vol. 4. – P. 139–143.
50. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic / F. Ferreira, T. Hawranek, P. Gruber et al. // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59. – P. 243–267.
51. Allergic symptoms, atopy and geohelminth infections in a rural area of Ecuador / P.J. Cooper, M.E. Chico, M. Bland et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care.* – 2003. – Vol. 168. – P. 313–317.
52. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: Prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics / N. Nicolaou, M. Poorafshar, C. Murray et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125. – P. 191–197.
53. An enteric helminth infection protects against an allergic response to dietary antigen / M.E. Bashir, P. Andersen, I.J. Fuss et al. // *J. Immunol.* – 2002. – Vol. 15. – P. 3284–3292.
54. Appleman, L.J. T cell anergy and costimulation / L.J. Appleman, V.A. Boussiotis // *Immunol. Rev.* – 2003. – Vol. 192. – P. 161–180.
55. Association of atopy, asthma, allergic rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis and intestinal helminth infections in Cuban children / M. Wördemann, R.J. Diaz, L.M. Heredia et al. // *Trop. Med. Int. Health.* – 2008. – Vol. 13. – P. 180–186.

56. Asthma, eczema, and reports on pollen and cat allergy among pupils in Shanxi province, China / D. Norbäck, Z.H. Zhao, Z.H. Wang et al. // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* – 2007. – Vol. 80, N 3. – P. 207–216.
57. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection / N. Rujeni, N. Nausch, C.D. Bourke et al. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 158, N 3. – P. 288–298.
58. Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities // O.A. Nyan, G.E. Walraven, W.A. Banya et al. // *Clin. Exp. Allergy.* – 2001. – Vol. 31. – P. 1672–1678.
59. Ben-Shoshan, M. Food-induced anaphylaxis: Clinical highlights and knowledge gaps. *Paediatr* / M. Ben-Shoshan, A.E. Clarke // *Child Health.* – 2012. – Vol. 17. – P. 29–30.
60. Berin, M.C. Food allergy: an enigmatic epidemic / M.C. Berin, H.A. Sampson // *Trends Immunol.* – 2013. – Vol. 34, N 8. – P. 390–397.
61. Bischoff, S.C. Allergy and the gut / S.C. Bischoff, J.H. Mayer, M.P. Manns // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2000. – Vol. 121. – P. 270–283.
62. Boye, J.I. Food allergies in developing and emerging economies: need for comprehensive data on prevalence rates / J.I. Boye // *Clin. Transl. Allergy.* – 2012. – Vol. 2. – P. 25–31.
63. Brandtzaeg, P. Food allergy: separating the science from the mythology / P. Brandtzaeg // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2010. – Vol. 7, N 7. – P. 380–400.
64. Breiteneder, H. A classification of plant food allergens / H. Breiteneder, C. Radauer // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 113, N 5. – P. 821–830.
65. CD4⁺ but not CD8⁺ T cells are required for the induction of oral tolerance / P. Garside, M. Steel, F.Y. Liew et al. // *Int. Immunol.* – 1995. – Vol. 7. – P. 501–504.

66. Characterisation of allergen-specific responses of IL-10-producing regulatory B-cells in Cow Milk Allergy / J. Noh, J.H. Lee, G. Noh et al. // *Cell Immunol.* – 2010. – Vol. 264, N 2. – P. 143–149.
67. Characterization of recombinant shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) / G. Reese, B.J. Jeoung, C.B. Daul et al. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 1997. – Vol. 113. – P. 240–242.
68. Chehade, M. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities / M. Chehade, L. Mayer // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 115. – P. 3–12.
69. Chronic helminth infection reduces basophil responsiveness in an IL-10-dependent manner / D. Larson, M.P. Hübner, M.N. Torrero et al. // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 188, N 9. – P. 4188–4199.
70. Comparison of a polymerase chain reaction and the kato-katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni* / A. Luis, M.C. Pontes, N. Oliveira et al. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2003. – Vol. 68, N 6. – P. 652–656.
71. Comparison of real-time PCR and microscopy for malaria parasite detection in Malawian pregnant women / A. Rantala, S.M. Taylor, P.A. Trottman et al. // *Malaria J.* – 2010. – Vol. 9. – P. 269.
72. Cooper, P.J. Allergy and geohelminth infections: a review of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible causal associations / P.J. Cooper, M.L. Barreto, L.C. Rodrigues // *Br. Med. Bull.* – 2006. – Vol. 79-80. – P. 203–218.
73. Cooper, P.J. Interactions between helminth parasites and allergy / P.J. Cooper // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 9, N 1. – P. 29–37.
74. Cooper, P.J. *Toxocara* infection: an important and neglected risk factor for asthma / P.J. Cooper // *Clin. Exp. Allergy.* – 2008. – Vol. 38. – P. 551–553.
75. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach / A.B. Santos, G.M. Rocha, C. Oliver et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121. – P. 1040–1046.

76. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: role for parasite-induced interleukin-10 / A.H. van den Biggelaar, R. van Ree, L.C. Rodriguez et al. // *Lancet*. – 2000. – Vol. 356. – P. 1723–1727.
77. Demir, E. Prevalence of asthma and allergic diseases in Sanliurfa, Turkey, and the relation to environmental and socioeconomic factors: is the hygiene hypothesis enough / C.D. Zeyrek, M.D. Zeyrek, E. Sevinc // *J. Investig. Allergol Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 16, N 5. – P. 290–295.
78. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization / R. Movérare., K. Westritschnig, M. Svensson et al. // *Int. Arch Allergy Immunol.* – 2002. – Vol. 128. – P. 325–335.
79. Early infection with *Trichuris trichiura* and allergen skin test reactivity in later childhood / L. Rodrigues, P. Newcombe, S. Cunha et al. // *Clin. Exp. Allergy*. – 2008. – Vol. 38. – P. 1769–1777.
80. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum / N.R. Lynch, I. Hagel, M. Perez et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1993. – Vol. 92. – P. 404–411.
81. Eigenmann, P.A. Mechanisms of food allergy / P.A. Eigenmann // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2009. – Vol. 20. – P. 5–11.
82. Environmental and demographic risk factors for egg allergy in a population-based study of infants / J.J. Koplin, S.C. Dharmage, A.L. Ponsonby et al. // *Allergy*. – 2012. – Vol. 67, N 11. – P. 1415–1422.
83. Environmental conditions, immunologic phenotypes, atopy, and asthma: new evidence of how the hygiene hypothesis operates in Latin America / C.A. Figueiredo, L.D. Amorim, N.M. Alcantara-Neves et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 131, N 4. – P. 1064–1068.
84. Experimental hookworm infection: a randomized placebo-controlled trial in asthma / J.R. Feary, A.J. Venn, K. Mortimer et al. // *Clin. Exp. Allergy*. – 2010. – Vol. 40, N 2. – P. 299–306.

85. Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis / N. Nieuwenhuizen, A.L. Lopata, M.F. Jeebhay et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 117. – P. 1098–1105.
86. Factors affecting human IgE and IgG responses to allergen-like *Schistosoma mansoni* antigens: Molecular structure and patterns of in vivo exposure / C.M. Fitzsimmons, R. McBeath, S. Joseph et al. // *Int. Arch. Allergy. Immunol.* – 2007. – Vol. 142. – P. 40–50.
87. Fallon, P.G. Suppression of Th2-type allergic reactions by helminth infections / P.G. Fallon, N.E. Mangan // *Nature Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 7. – P. 220–230.
88. Falth-Magnusson, K. Allergy prevention by maternal elimination diet during late pregnancy – a 5 year follow-up of randomized study / K. Falth-Magnusson, N. Kjellman // *Allergy Clin. Immunology.* – 1992. – Vol. 89. – P. 709–713.
89. Family size, day-care attendance and breastfeeding in relation to the risk of childhood asthma / C. Infante-Rivard, D. Amre, D. Gautrin et al. // *Am. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 153. – P. 653–658.
90. Faria, A.M. Oral tolerance / A.M. Faria, H.L. Weiner // *Immunol. Rev.* – 2005. – Vol. 206. – P. 232–259.
91. Fitzsimmons, C.M. Survival of the fittest: allergology or parasitology? / C.M. Fitzsimmons, W. David // *Trends. Parasitol.* – 2009. – Vol. 25, N 10. – P. 447–451.
92. Food allergy as a risk-factor of life-threatening asthma in childhood a case-controlled study / G. Roberts, N. Patel, F. Levi-Schaffer et al. // *J. Allergol. Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 112. – P. 168–174.
93. Food Allergy as Defined by Component Resolved Diagnosis / C. Incorvaia, A. Rapetti, M. Aliani et al. // *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug. Discov.* – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 59–73.
94. Food allergy in Venezuelan school children / P.A. Franca, D. Cifarelli, E. Lopez et al. // *Clin. Transl. Allergy.* – 2013. – Vol. 3. – P. 36–41.

95. Frossard, C.P. Oral administration of an IL-10-secreting *Lactococcus lactis* strain prevents food-induced IgE sensitization. / C.P. Frossard, L. Steidler, P.A. Eigenmann // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119. – P. 952–959.
96. Gause, W.C. The immune response to parasitic helminths: insights from murine models / W.C. Gause, J.F. Urban, M.J. Stadecker // *Trends. Immunol.* – 2003. – Vol. 24. – P. 269–272.
97. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells / J.R. Mora, M. Iwata, B. Eksteen et al. // *Science.* – 2006. – Vol. 17. – P. 1157–1160.
98. Geographic variability of childhood food allergy in the United States / R.S. Gupta, E.E. Springston, B. Smith et al. // *Clin. Pediatr.* – 2012. – Vol. 51. – P. 856.
99. Germ-free status and altered caecal subdominant microbiota are associated with a high susceptibility to cow's milk allergy in mice / B. Rodriguez, G. Prioult, R. Bibiloni et al. // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2011. – Vol. 76, N 1. – P. 133–144.
100. Godfrey, R.C. Allergic sensitisation of human lung fragments prevented by saturation of IgE binding sites / R.C. Godfrey, C.F. Gradidge // *Nature.* – 1976. – Vol. 259. – P. 484–486.
101. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel / NIAID-Sponsored Expert Panel, J.A. Boyce, A. Assa'ad et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 126, N 6. – P. 1–58.
102. Gunnar, S. ImmunoCAP specific immunoglobulin E test: tool for research and allergy diagnosis / S. Gunnar, O. Johansson // *Expert Rev. Mol. Diagn.* – 2004. – Vol. 4, N 3. – P. 89–95.
103. Han, Y. Food allergy / Y. Han, J. Kim, K. Ahn // *Korean J. Pediatr.* – 2012. – Vol. 55, N 5. – P. 153–158.
104. Hawrylowicz, C.M. Regulatory T-cells and IL-10 in allergic inflammation / C.M. Hawrylowicz // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 202. – P. 1459–1463.
105. Heine, R. The diagnosis and management of egg allergy / R. Heine, N. Laske, D.J. Hill // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2006. – N 6. – P. 145–152.

106. Helminth infection during pregnancy and development of infantile eczema / A.M. Elliott, M.A. Quigley, M. Nampijja et al. // *JAMA*. – 2005. – Vol. 294. – P. 2032–2034.
107. Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells / N.E. Mangan, R.E. Fallon, P. Smith et al. // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173. – P. 6346–6356.
108. High intestinal IgA associates with reduced risk of IgE-associated allergic diseases / K. Kukkonen, M. Kuitunen, T. Haahtela et al. // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 67–73.
109. Hofmann, A. Pollen food syndrome: update on the allergens / A. Hofmann, A.W. Burks // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2008. – Vol. 8, N 5. – P. 413–417.
110. ICON: food allergy / A.W. Burks, M. Tang, S. Sicherer et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 129, N 4. – P. 906–920.
111. IgE sensitization to the nonspecific lipid-transfer protein Arah 9 and peanut-associated bronchospasm [Electronic resource] / P.D. Arkwright, C.W. Summers, B.J. Riley et al. // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/746507/>.
112. IgE versus IgG4 epitopes of the peanut allergen Arah 1 in patients with severe allergy / K.L. Bøgh, H. Nielsen, T. Eiwegger et al. // *Mol. Immunol.* – 2014. – Vol. 58, N 2. – P. 169–176.
113. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T-regulatory 1 and T helper 2 cells / M. Akdis, J. Verhagen, A. Taylor et al. // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 199. – P. 1567–1575.
114. Impact of bimonthly treatment of geohelminth-infected children with albendazole on atopy prevalence: a cluster-randomized trial / P.J. Cooper, M.E. Chico, M. Vaca et al. // *Lancet*. – 2006. – Vol. 367. – P. 1598–1603.
115. Impact of early life exposures to geohelminth infections on the development of vaccine immunity, allergic sensitization, and allergic inflammatory diseases in children living in tropical Ecuador: the ECUAVIDA birth cohort study /

- P.J. Cooper, M.E. Chico, I. Guadalupe et al. // *BMC Infect.* – 2011. – Vol. 11. – P. 184–200.
116. Impact of helminth infection on childhood allergic diseases in an area in transition from high to low infection burden / M. Amarasekera, N.K. Gunawardena, N.R. de Silva et al. // *Asia Pac. Allergy.* – 2012. – Vol. 2, N 2. – P. 122–128.
117. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on the risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study / S. Scrivener, H. Yemaneberhan, M. Zebenigus et al. // *Lancet.* – 2001. – Vol. 358. – P. 1493–1499.
118. Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial hyper reactivity: an outstanding association in Venezuelan school children from endemic areas / I. Hagel, M. Cabrera, M.A. Hurtado et al. // *Acta Trop.* – 2007. – Vol. 103. – P. 231–241.
119. Innate CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells are required for oral tolerance and inhibition of CD8⁺T-cells mediating skin inflammation / B. Dubois, L. Chapat, A. Goubier et al. // *Blood.* – 2003. – Vol. 102. – P. 3295–3301.
120. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor / K.W. Moore, R. de Waal Malefyt, R.L. Coffman et al. // *Ann. Rev. Immunol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 683–765.
121. Kalogeromitros, D. Contact urticaria and systemic anaphylaxis from codfish / D. Kalogeromitros, M. Armenaka, A. Katsarou // *Contact. Dermatitis.* – 1999. – Vol. 41, N 3. – P. 170–171.
122. Kondo, Y. Oral Allergy Syndrome / Y. Kondo, A. Urisu // *Allergology International.* – 2009. – Vol. 58. – P. 485–491.
123. Larche, M. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy / M. Larche, C.A. Akdis, R. Valenta // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 761–771.
124. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations / D.G. Marsh, J.D. Neely, D.R. Breazeale et al. // *Science.* – 1994. – Vol. 264. – P. 1152–1156.

125. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren / A.H.J. van den Bigelaar, L.C. Rodrigues, R. van Ree et al. // *J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 189. – P. 892–900.
126. Maternal peanut exposure during pregnancy and lactation reduces peanut allergy risk in offspring / I. López-Expósito, Y. Song, K.M. Järvinen et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 124, N 5. – P. 1039–1046.
127. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor- β . The role of T-regulatory cells / A. Taylor, J. Verhagen, K. Blaser // *Immunology.* – 2006. – Vol. 117. – P. 433–442.
128. Molecular diagnosis in Allergology: application of the microarray technique / M. Ferrer, M.L. Sanz, J. Sastre et al. // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 19, N 1. – P. 19–24.
129. Molecular Properties of Plant Food Allergens: A Current Classification into Protein Families / M. Hauser, M. Egger, M. Wallner et al. // *Open Immunol. J.* – 2008. – Vol. 1. – P. 1–12.
130. Mowat, A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens / A.M. Mowat // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3, N 4. – P. 331–341.
131. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal / R.J. ten Hove, J.J. Verweij, K. Vereecken et al. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 102. – P. 179–185.
132. Murine model of oral tolerance. Induction of Fas-mediated apoptosis by blockade of interleukin-12 / T. Marth, Z. Zeitz, B. Ludviksson et al. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 859. – P. 290–294.
133. Mutius von, E. Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma / E. von Mutius // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – Vol. 109. – P. 525–532.
134. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006 /

- A.H. Liu, R. Jaramillo, S.H. Sicherer et al. // *Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 126, N 4. – P. 798–806.
135. Nomenclature and structural biology of allergens / M.D. Chapman, A. Pomes, H. Breitender et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119, N 2. – P. 414–420.
136. Nowak-Węgrzyn, A. Food allergy to proteins / A. Nowak-Węgrzyn // *Nestle Nutr. Workshop. Ser. Pediatr. Program.* – 2007. – Vol. 59. – P. 17–31.
137. Nowak-Węgrzyn, A. Future Therapies for Food Allergies / A. Nowak-Węgrzyn, H.A. Sampson // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 127, N 3. – P. 558–573.
138. Oral treatment with β -lactoglobulin peptides prevents clinical symptoms in a mouse model for cow's milk allergy / L. Meulenbroek, B.C. van Esch, G.A. Hofman // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2013. – Vol. 24, N 7. – P. 656–664.
139. Panallergens and their impact on the allergic patient / M. Hauser, A. Roulias, F. Ferreira et al. // *Allergy Asthma Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 6, N 1. – P. 67–78.
140. Parasite infections and the risk of asthma and atopy / N. Lynch, J. Goldblatt, P.N. le Souef // *Thorax.* – 1999 – Vol. 54, N 8. – P. 659–660.
141. Position paper: Allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology // *Allergy.* – 1993. – Vol. 48, N 14. – P. 48–82.
142. Poverty, dirt, infections and non-atopic wheezing in children from a Brazilian urban center / M.L. Barreto, S.S. Cunha, R. Fiaccone et al. // *Respir. Res.* – 2010. – Vol. 11. – P. 167.
143. Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 3 years of life / C. Venter, B. Pereira, K. Voigt et al. // *Allergy.* – 2008. – Vol. 63, N 3. – P. 354–359.
144. Protective immune mechanisms in helminth infection / R.M. Anthony, L.I. Rutitzky, J.F. Urban et al. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 7. – P. 975–987.

145. Recombinant lipid transfer protein Cor a 8 from hazelnut: a new tool for in vitro diagnosis of potentially severe hazelnut allergy / F. Schocker, D. Lüttkopf, S. Scheurer et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 113, N 1. – P. 141–147.
146. Regulatory B-cells prevent and reverse allergic airway inflammation via FoxP3-positive T regulatory cells in a murine model / S. Amu, S.P. Saunders, M. Kronenberg et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, N 5. – P. 1114–1124.
147. Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment / N.R. Lynch, I.A. Hagel, M.E. Palenque et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 101. – P. 217–221.
148. Risk factors for asthma and atopy / L.K. Arruda, D. Solé, C.E. Baena-Cagnani et al. // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 5, N 2. – P. 153–159.
149. Role of the low affinity IgE receptor (CD23) on the IgE response against *Ascaris lumbricoides* in Warao Amerindian children from Venezuela / I. Hagel, M. Cabrera, P. Sánchez et al. // *Invest. Clin.* – 2006. – Vol. 47, N 3. – P. 241–251.
150. Sastre, J. Molecular diagnosis in allergy / J. Sastre // *Clin. Exp. Allergy.* – 2010. – Vol. 40, N 10. – P. 1442–1460.
151. *Schistosoma mansoni*-Mediated Suppression of Allergic Airway Inflammation Requires Patency and Foxp3(+) Treg Cells / L.E. Layland, K. Straubinger, M. Ritter et al. // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2013. – Vol. 7, N 8. – P. 237–239.
152. Schnoeller, C. IL-10-producing macrophages responses by induction of reduces allergic and inflammatory a helminth immunomodulator / C. Schnoeller, S. Rausch, S. Pillai // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – P. 4265–4272.
153. Sensitization to *Ascaris lumbricoides* and severity of childhood asthma in Costa Rica / G.M. Hunninghake, M.E. Soto-Quiros, L. Avila et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119. – P. 654–661.
154. Sensitization to common food allergens is a risk factor for asthma in young Chinese children in Hong Kong / T.F. Leung, C.W. Lam, I.H. Chan et al. // *J. Asthma.* – 2002. – Vol. 39, N 6. – P. 523–529.

155. Sicherer, S.H. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment / S.H. Sicherer, H.A. Sampson // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 133, N 2. – P. 291–307.
156. Smallwood, J. Exposure to dog allergens and subsequent allergic sensitization: an updated review / J. Smallwood, D. Ownby // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2012. – Vol. 12, N 5. – P. 424–428.
157. Smits, H.H. Chronic Helminth Infections Protect Against Allergic Diseases by Active Regulatory Processes / H.H. Smits, B. Everts, M. Yazdanbakhsh // *Curr. Allergy Asthma Rep. J.* – 2010. – Vol. 10, N 1. – P. 3–12.
158. Soluble CD23 levels are inversely associated with atopy and parasite-specific IgE levels but not with polyclonal IgE levels in people exposed to helminth infection / N. Rujeni, N. Nausch, N. Midzi et al. // *Int. Arch Allergy Immunol.* – 2013. – Vol. 161, N 4. – P. 333–341.
159. Stage-specific excretory-secretory small heat shock proteins from the parasitic nematode *Strongyloides ratti*-putative links to host's intestinal mucosal defense system / A.E. Younis, F. Geisinger, I. Ajonina-Ekoti et al. // *FEBS J.* – 2011. – Vol. 278, N 18. – P. 3319–3336.
160. Strachan, D.P. Hayfever, hygiene, and household size / D.P. Strachan // *BMJ.* – 1989. – Vol. 299. – P. 1259–1262.
161. Strachan, D.P. Socioeconomic factors and the development of allergy / D.P. Strachan // *Toxicol. Lett.* – 1996. – Vol. 86. – P. 199–203.
162. Suppression of type 2 immunity and allergic airway inflammation by secreted products of the helminth *Heligmosomoides polygyrus* / H.J. McSorley, M.T. O'Gorman, N. Blair et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42, N 10. – P. 2667–2682.
163. The atopic march: progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma / T. Zheng, J. Yu, M.H. Oh et al. // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2011. – Vol. 3, N 2. – P. 67–73.

164. The epidemiology of food allergy in Europe: protocol for a systematic review / B.I. Nwaru, S.S. Panesar, L. Hickstein et al. // *Clin. Transl. Allergy*. – 2013. – Vol. 3, N 1. – P. 3–13.
165. The EuroPrevall-INCO surveys on the prevalence of food allergies in children from China, India and Russia: the study methodology / G.W. Wong, P.A. Mahesh, O.S. Fedorova et al. // *Allergy*. – 2010. – Vol. 65, N 3. – P. 385–390.
166. The impact of family history of allergy on risk of food allergy: a population-based study of infants / J.J. Koplin, K.J. Allen, L.C. Gurrin et al. // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2013. – Vol. 25. – P. 5364–5377.
167. The natural history of egg allergy / J.H. Savage, E.C. Matsui, J.M. Skripak et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 120. – P. 1413–1417.
168. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy / J.M. Skripak, E.C. Matsui, K. Mudd et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 120. – P. 1172–1177.
169. The prevalence of and risk factors for atopy in early childhood: a whole population birth cohort study / S.M. Tariq, S.M. Matthews, E.A. Hakim et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 101, N 5. – P. 587–593.
170. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults / M. Osterballe, T.K. Hansen, C.G. Mortz et al. // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 567–573.
171. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe / E.N. Mills, A.R. Mackie, P. Burney et al. // *Allergy*. – 2007. – Vol. 62. – P. 717–722.
172. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction / N. Sudo, S. Sawamura, K. Tanaka et al. // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 159. – P. 1739–1745.
173. Total and allergen-specific immunoglobulin A levels in saliva in relation to the development of allergy in infants up to 2 years of age / M.F. Böttcher, P. Häggström, B. Björkstén et al. // *Clin. Exp. Allergy*. – 2002. – Vol. 32, N 9. – P. 1293–1298.

174. Toxocaraseropositivity, atopy and wheezing in children living in poor neighbourhoods in urban Latin American / L.R. Mendonça, R.V. Veiga, V.C. Dattoli et al. // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2012. – Vol. 6, N 11. – P. 1886.
175. Turner, J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease / J.R. Turner // *Nat. Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 9. – P. 799–809.
176. Urry, Z. Interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma / E. Xystrakis, C.M. Hawrylowicz // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2006. – Vol. 6. – P. 363–371.
177. Wheezing, allergy and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia / D. Dagoye, Z. Bekele, K. Woldemichael et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167. – P. 1369–1373.
178. Wolthers, O.D. Component-resolved diagnosis in pediatrics [Electronic resource] / O.D. Wolthers // *ISRN Pediatr.* – 2012. – Vol. 2012. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/isrn.pediatrics/2012/806920/>.
179. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines / A. Fiocchi, J. Brozek, H. Schünemann et al. // *World Allergy Organ J.* – 2010. – Vol. 3. – P. 57–161.
180. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee // *Lancet.* – 1998. – Vol. 351. – P. 1225–1232.
181. Yazdanbakhsh, M. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis / M. Yazdanbakhsh, P.G. Kremsner, R. van Ree // *Science.* – 2002. – Vol. 296. – P. 490–494.