

© АЛЯХНОВИЧ Н.С., ЯНЧЕНКО В.В., 2016

ВЛИЯНИЕ ПРОВОКАЦИОННОЙ ПРОБЫ С АЛЛЕРГЕНОМ НА IgE⁺CD203c⁺ БАЗОФИЛЫ КРОВИ

АЛЯХНОВИЧ Н.С.* , ЯНЧЕНКО В.В.*,**

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

**ОДО «Научно-исследовательское предприятие Ресан», г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №3. – С. 60-68.

THE EFFECT OF PROVOCATIVE TEST WITH THE ALLERGEN ON THE IgE⁺CD203c⁺ BLOOD BASOPHILS

ALIACHNOVICH N.S.* , YANCHANKA U.V.**

*Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Vitebsk, Republic of Belarus

**Scientific Research Company Resan, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2016;15(3):60-68.

Резюме.

Цель работы – идентификация и оценка экспрессии IgE на базофилах с помощью синтетического пептида p₁₃₇₋₁₄₂FcεRIα, - фрагмента активного центра высокоаффинного рецептора иммуноглобулина E, до и после пероральной провокационной пробы с аллергеном.

Материал и методы. Обследовано 50 человек: 29 – с установленной аллергической патологией (исследуемая группа), 21 – без алергопатологии (группа контроля). После получения информированного согласия проводился пероральный провокационный тест с аллергеном домашней пыли или с пищевыми красителями: тартразином и/или диоксидом титана.

Кровь забиралась натощак до и через 40 мин после провокации. Фенотипирование клеток по IgE⁺ и CD203c⁺ маркерами проводили на проточном цитометре с использованием тест-системы IgE-203c ОДО «НИКП Ресан» (Беларусь), содержащей синтетический пептид p₁₃₇₋₁₄₂FcεRIα-FITC и моноклональные антитела CD203c-PE.

Результаты. Исходное количество IgE⁺CD203c⁺ базофилов выше у лиц с аллергическими заболеваниями, а также в случае аллергических реакций на бытовые и пищевые аллергены (p<0,05). Количество IgE⁺CD203c⁺ базофилов более 10 на 30000 клеток крови обнаружено у 82% человек исследуемой группы и у 18% - контрольной (p=0,03).

После провокационной пробы у больных с аллергией в 78% количество IgE⁺CD203c⁺ базофилов изменялось более чем на 30%: увеличивалось в 30%, снижалось в 48%. Изменения числа IgE⁺CD203c⁺ базофилов были обратно пропорциональны исходному их количеству, наблюдалась корреляция с кожными пробами. Изменение количества IgE⁺CD203c⁺ базофилов более чем на 30% наблюдалось после пробы с аллергеном домашней пыли - в 54% случаев; с пищевым красителем - в 83% случаев.

Заключение. Количество IgE⁺CD203c⁺ базофилов у людей с аллергией превышает таковое у здоровых лиц и является значимым критерием алергопатологии. Пищевые красители чаще вызывают изменение фенотипа лейкоцитов, чем аллерген домашней пыли. Выявление IgE, связанного с клетками, представляется нам целесообразным для диагностики IgE-зависимых заболеваний у людей.

Ключевые слова: провокационная проба, базофилы, иммуноглобулин E, IgE⁺, CD203c⁺.

Abstract.

Objectives. To identify and assess the IgE expression on basophils with the help of synthetic peptide p₁₃₇₋₁₄₂FcεRIα, a fragment of the active site of the high affinity receptor to immunoglobulin E, before and after peroral provocative test with the allergen.

Material and methods. 50 people were enrolled in the study: 29 – with verified allergy – the studied group, 21 – without any allergy - the controls. After obtaining their informed consent the peroral provocative test with the house dust allergen or food dyes: tartrazine and / or titanium dioxide was conducted.

Blood was sampled on an empty stomach before and 40 minutes after the provocative test. Flow cytometry IgE⁺ and CD203c⁺ phenotyping was performed using the test system IgE-203c containing synthetic peptide p₁₃₇₋₁₄₂FcεRIα-FITC and monoclonal antibodies CD203c-PE.

Results. The initial IgE⁺CD203c⁺ basophils number is higher in the individuals with verified allergic diseases and allergic reactions to the household and food allergens (p<0,05). The IgE⁺CD203c⁺ basophils amount more than 10 per 30,000 blood cells was revealed in 82% cases of the studied group and in 18% controls (p=0,03). After the peroral provocative test in patients with allergies in 78% cases there was the IgE⁺CD203c⁺ basophils number change (over 30%): in 30% - increasing, in 48% - decreasing. The IgE⁺CD203c⁺ basophils number varied in an inverse proportion to their original amount, a correlation with skin tests was observed. The IgE⁺CD203c⁺ basophils level changed more than by 30% after the peroral test with the house dust allergen – in 54% cases; with the food dye – in 83% cases.

Conclusions. The IgE⁺CD203c⁺ basophils number in people with allergies is higher than that in healthy individuals and is a significant criterion of allergopathology. Food dyes cause white blood cells phenotype change more often than the house dust allergen. Detection of IgE, associated with the cells, seems to be expedient for IgE-dependent diseases diagnosing in humans.

Key words: provocative test, basophils, immunoglobulin E, IgE⁺, CD203c⁺.

Установлено, что базофилы играют важную роль в запуске аллергических реакций [1]. При специфическом связывании аллергена с иммуноглобулинами класса E (IgE), заякоренными на высокоафинных рецепторах (FcεRIα) базофилов, происходит дегрануляция клеток с выбросом медиаторов и развитие аллергической реакции [2, 3].

Исследования показали, что базофилы являются эффекторными клетками и могут запускать воспаление по пути Т-хелперов 2 типа, секретировав интерлейкины 4 и 13 [1].

Для диагностики аллергии широко распространена оценка уровня свободного IgE в крови, что не всегда оправдано, так как запуск анафилактических реакций обуславливают лишь связанные с базофилами IgE [2, 4].

Как показывают исследования, обычно уровень сывороточного IgE коррелирует с уровнем экспрессии IgE-рецепторов на клетках. Тем не менее, у детей-аллергиков количество IgE-несущих клеток (IgE⁺) при нормальном и повышенном уровне свободного IgE в сыворотке крови достоверно не различалось. Более того, при нормальном уровне сывороточного IgE может регистрироваться высокий уровень IgE на клетках [5].

В настоящее время для диагностики лекарственной, пищевой и инсектной аллергии применяется тест прямой и непрямой активации базофилов *in vitro* [1, 6].

Провокационные пробы *in vivo* с аллергенами являются наиболее информативным и в то же время опасным методом диагностики аллергопатологии. Актуальным является разработка методов их оценки до развития классических симптомов аллергии и опасных реакций.

CD203c известен как чувствительный маркер активации базофилов крови [6]. По данным литературы, наиболее чувствительный и ранний маркер активации базофилов CD63 при оптимальной дозе агониста выявляется лишь на небольшой части базофилов, обычно присутствуя внутриклеточно, тогда как специфичный для базофилов эктоэнзим E-NPP3 (CD203c) выявляется на всех базофилах как исходно [7], так и после взаимодействия с агонистом, даже на тех, на которых отсутствует CD63 [8]. Время от 15 до 30 минут считается достаточным для полной экспрессии активационного маркера CD203c на поверхности базофила [8]. Кроме того, CD203c ассоциируется с низкодозовой активацией хемотаксиса, в то время как CD63 больше связан с дегрануляцией [9].

Для диагностики аллергических реакций первого типа мы предлагаем выявление базофилов и других клеток, связавших IgE. Для этого мы использовали синтетический пептид p₁₃₇₋₁₄₂FcεRIα, являющийся фрагментом активного центра высокоафинного рецептора иммуноглобулина E. Ранее было показано, что

этот пептид выявляет IgE на поверхности клеток крови [10, 11].

Цель – идентификация и оценка экспрессии IgE на базофилах с помощью синтетического пептида $p_{137-142}$ FcεRIα, – фрагмента активного центра высокоаффинного рецептора иммуноглобулина E, до и после пероральной провокационной пробы с аллергеном.

Материал и методы

В ходе работы обследовано 50 человек: 33 женщины, 17 мужчин; средний возраст 35 [31; 40] лет. По данным анамнеза аллергические реакции на бытовые аллергены имели 60% участников; на пищевые аллергены – 36%; непереносимость пищевых красителей отмечали 28% участников; 36% обследованных указывали на наследственную отягощенность по аллергии.

При наличии установленной аллергической патологии (верифицированный по международным критериям диагноз) участников включали в исследуемую группу (29 человек: 17 женщин, 12 мужчин; средний возраст 37 [32; 42] лет). Контрольную группу составили лица без аллергопатологии (21 человек: 16 женщин, 5 мужчин; 34 [27; 41] лет). 6 человек (29%) контрольной группы указывали на наличие в анамнезе эпизода какой-либо аллергической реакции. Группы достоверно не различались по возрасту и полу. После получения информированного согласия проводился слепой провокационный тест, то есть испытуемому не было известно, что тестируется аллерген или плацебо (раствор без аллергена).

Оценка провокационной пробы проводилась путем сравнения исходных и полученных после пробы показателей, а также по изменениям показателей в процентах от исходного: изменение показателя = ((после - до) / до) × 100%.

25 добровольцам проведена пероральная провокационная проба с аллергеном домашней пыли. Для этого язык тестируемых орошали 0,05 мл аллергена в разведении 100 PNU/ml. 17 человек из этой группы имели установленную и подтвержденную сенсibilизацию на бытовые аллергены по данным анамнеза и кожным пробам. 8 человек не имели данных о сенсibilизации к бытовым аллергенам и аллергических заболеваний в анамнезе.

26 лицам проведена пероральная провокационная проба с пищевыми красителями (22 – с чистым диоксидом титана, 4 – с тартразином в желатиновой капсуле, содержащей 0,175 мг диоксида титана в своем составе). Для этого 2 мг пищевого красителя высыпали на язык в виде порошка или тестируемый глотал желатиновую капсулу с 2 мг тартразина внутри. 16 человек из этой группы имели установленный диагноз аллергического заболевания (бронхиальная астма, аллергический ринит) и пищевую непереносимость, подозревали наличие аллергии к пищевым красителям по данным анамнеза. 10 человек отрицали какие-либо аллергические реакции в прошлом и не имели наследственной отягощенности по аллергии.

Для фенотипирования клеток крови забиралась натошак из локтевой вены до и через 40 мин после пероральной провокационной пробы в пробирки с гепарином. Исследование проводили на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter Inc., США) с использованием тест-системы IgE-203c ОДО «НИКП Ресан» (Беларусь), содержащей синтетический пептид $p_{137-142}$ FcεRIα-FITC и моноклональные антитела CD203c-PE.

К 100 мкл гепаринизированной цельной крови добавляли 2,5 мкл раствора тест-системы IgE-203c, аккуратно перемешивали на вортексе и инкубировали 15 мин при комнатной температуре, затем добавляли лизирующий эритроциты раствор и инкубировали при температуре 37°C еще 10 мин. После добавления 500 мкл буферного раствора проводили фенотипирование.

В ходе исследования оценивали:

- абсолютное количество IgE⁺CD203c⁺ клеток (базофилов, связавших IgE);
- относительное количество IgE⁺CD203c⁺ клеток от всех клеток;
- относительное количество IgE⁺CD203c⁺ клеток от IgE⁺ клеток;
- относительное количество IgE⁺CD203c⁺ клеток от CD203c⁺ клеток;
- относительное количество CD203c⁺ клеток от IgE⁺ клеток;
- относительное количество CD203c⁺ клеток от всех клеток;
- абсолютное количество клеток, высокоэкспрессирующих IgE (IgE^{bright});
- относительное количество IgE^{bright} от общего количества IgE⁺ клеток.

Расчеты показателей проводились в программе Statistica 10,0. Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения (Shapiro-Wilk $p > 0,05$), обрабатывались с помощью критерия T-test, непараметрические данные – с помощью критериев Mann-Whitney U Test (M-U), Wald-Wolfowitz Runs Test (W-W), парного теста Wilcoxon Matched Pairs Test (WPT) с указанием величины критерия (t; U; Z; T) и уровня достоверности расчета (p). Влияние факторов на развитие какого-либо события оценивалось с помощью Factorial ANOVA с указанием величины критерия Фишера (F) и уровня достоверности расчета (p). Корреляция показателей оценивалась с помощью непараметрического теста Spearman Rank Order Correlations (Sp Corr) с указанием степени и уровня достоверности расчета (p). Для оценки значимости критериев применялся ROC-анализ с указанием чувствительности, специфичности, уровня значимости (AUC), достоверности (p).

Результаты и обсуждение

Исходные значения исследуемых показателей в группах лиц с верифицированными аллергическими заболеваниями (исследуемая группа) и без них (контрольная группа) при-

ведены в таблице 1.

В целом лица с аллергопатологией имели более высокое абсолютное и относительное число клеток с IgE и CD203c маркерами (табл. 1).

Достоверные различия в группах установлены по абсолютному количеству IgE⁺CD203c⁺ базофилов и их уровню от всех клеток (M-U: U=279, p=0,04). Абсолютное количество клеток, высокоэкспрессирующих связанный IgE (IgE^{bright+}CD203c⁺ базофилов), у людей с аллергопатологией было достоверно выше, по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (W-W: Z=-2,1, p=0,04) (табл. 1).

Примечательно, что среди лиц с бытовой сенсибилизацией (подтвержденной анамнезом или пробами) процент IgE⁺CD203c⁺ базофилов от всех IgE⁺ клеток (1) (рис. 1) и абсолютное количество IgE^{bright+}CD203c⁺ базофилов (2) были исходно выше, чем у лиц, отрицающих реакцию на бытовые аллергены (M-U: U₁=249, p₁=0,03; W-W: Z₂=-2,3, p₂=0,02).

У обследуемых с жалобами на пищевую непереносимость и непереносимость пищевых красителей в частности, уровни абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ базофилов и относительного от общего количества клеток, а также относительное количество CD203c⁺ ба-

Таблица 1 - Исходные средние количества клеток с IgE и CD203c маркерами в исследуемой и контрольной группах

| | Лица с аллергопатологией, n=39 | Контрольная группа, n=21 |
|--|---|--------------------------|
| Показатели | Среднее значение [доверительный интервал] | |
| Абсолютное количество IgE ⁺ CD203c ⁺ базофилов на 30000 клеток крови | 25,3 [16,1;34,5]* | 12,2 [6,4;18,0] |
| Относительное количество IgE ⁺ CD203c ⁺ базофилов от всех клеток | 0,09 [0,06;0,11]* | 0,04 [0,02;0,06] |
| Относительное количество IgE ⁺ CD203c ⁺ базофилов от IgE ⁺ клеток | 4,2 [3,1;5,3] | 2,4 [2,1;2,8] |
| Относительное количество IgE ⁺ CD203c ⁺ базофилов от CD203c ⁺ базофилов | 90,4 [84,9;95,8] | 82,9 [72,4;93,5] |
| Относительное количество CD203c ⁺ базофилов от IgE ⁺ клеток | 2,6 [1,7;3,5] | 1,7 [1,0;2,3] |
| Относительное количество CD203c ⁺ базофилов от всех клеток | 0,12 [0,06;0,18] | 0,05 [0,03;0,07] |
| Абсолютное количество IgE ^{bright} клеток на 30000 клеток крови | 495,7 [335,2;656,2]** | 334,8 [251,0;418,6] |
| Относительное количество IgE ^{bright} клеток от общего количества IgE ⁺ клеток | 34,9 [27,2; 42,6] | 45,5 [34,8;56,1] |

Примечание: * – критерий M-U, p=0,04; ** – критерий W-W, p=0,04.

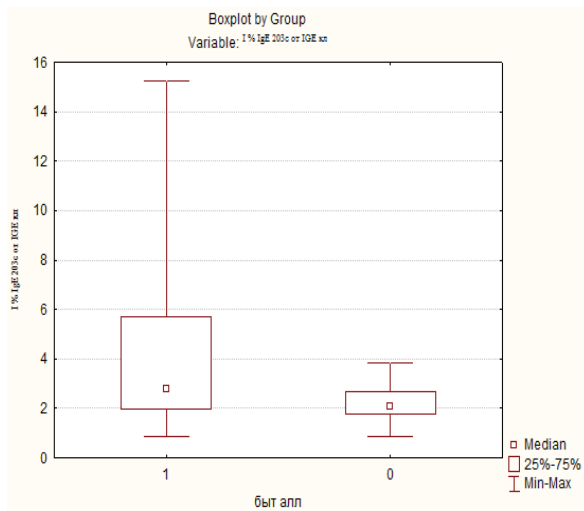


Рисунок 1 – Относительное количество $IgE^+CD203c^+$ базофилов от всех IgE^+ клеток в группах лиц с бытовой сенсибилизацией (1) и без сенсибилизации к бытовым аллергенам (0).

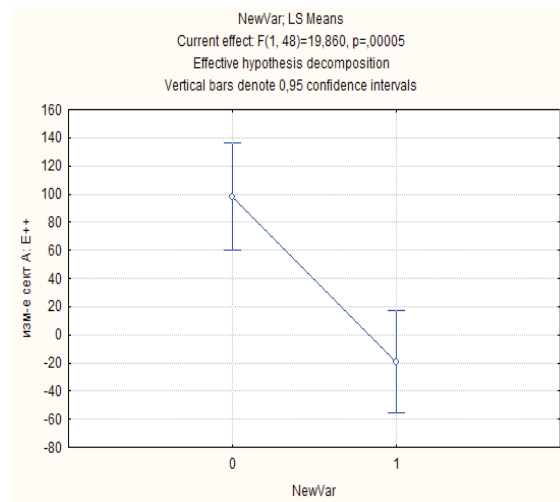


Рисунок 2 – Изменение (в %) исходно низкого количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов (<10 на 30000 клеток) (0) превышало изменение исходно высокого количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов (>10 на 30000 клеток) (1).

зофилов от всех IgE^+ клеток были выше, чем у лиц без пищевой и алиментарной (на пищевые красители) аллергии (M-U: $U=230-260$, $p<0,05$).

Наследственность по аллергии не являлась фактором, влияющим на количество клеток, экспрессирующих CD203c и/или связавших IgE .

Методом ROC-анализа оценена значимость исследуемых лейкоцитарных фенотипических показателей исходно (до пробы) во всех группах. Достоверно ($p=0,03$) значимыми ($AUC=0,660$) для выявления аллергопатологии оказались абсолютное количество $IgE^+CD203c^+$ клеток более 10 на 30000 клеток крови (чувствительность 64% и специфичность 71%).

После провокационной пробы с причинно-значимым аллергеном обнаружено достоверно более высокое относительное количество $IgE^+CD203c^+$ базофилов от всех IgE^+ клеток у людей с аллергическими заболеваниями, по сравнению с контрольной группой (M-U: $U_1=195$, $p_1=0,04$).

У всех обследованных лиц степень изменения количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов после провокационной пробы с причинно-значимым аллергеном была обратно пропорциональна исходному их числу (Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA: $F=20$,

$p=0,0001$) (рис. 2).

Для дальнейшей оценки изменения фенотипических лейкоцитарных показателей после провокационных проб были отобраны испытуемые с уровнем $IgE^+CD203c^+$ базофилов выше 10 на 30000 клеток. Этому критерию соответствовали 23 человека (82%) с аллергическими заболеваниями и 5 человек (18%) без подтвержденной аллергопатологии, из которых у 1 человека былаотягощенная наследственность по аллергии, 1 человек замечал непереносимость некоторых пищевых продуктов, 1 человек указывал на эпизоды аллергических реакций на бытовые аллергены.

В целом после перорального провокационного теста наблюдалось как повышение, так и снижение количественных показателей лейкоцитов с CD203c и IgE маркерами.

Учитывая двунаправленность изменений показателей после пероральной провокационной пробы, результаты были разделены на подгруппы снижения (процент прироста <0) и повышения (процент прироста >0) абсолютного количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов. В исследуемой группе таких оказалось 14 и 9 человек соответственно. При анализе различий до и после пробы внутри сформированных групп обнаружено достоверное снижение и увеличение исследуемых показателей (WPT: $p<0,01$). В контрольной группе достоверного

Таблица 2 – Выраженность изменений абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ клеток после провокационных проб в исследуемой группе

| Изменение IgE ⁺ CD203c ⁺ клеток | Степень изменения (%) | | | | |
|--|-----------------------|-------|---------|-------|----------------|
| | 0-30 | 30-50 | 50-100 | >100 | Всего более 30 |
| Увеличение абс. (%) | 4 (17) | - | 3 (13) | 2 (9) | 9 (22) |
| Снижение абс. (%) | 3 (13) | 2 (9) | 9 (39) | - | 11 (48) |
| Всего абс. (%) | 7 (30) | 2 (9) | 12 (52) | 2 (9) | 16 (70) |

изменения показателей после проб не зарегистрировано.

После проведения провокационной пробы у 16 испытуемых (71%) показатели изменялись более чем на 30%: повышение абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ клеток - у 22%; снижение - у 48% (табл. 2).

После пробы с домашней пылью у лиц исследуемой группы с наличием бытовой сенсибилизации по анамнезу изменения абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ клеток более 30% установлены в 54% случаев: повышение - у 18%, понижение - у 36%.

После пробы с пищевым красителем у лиц исследуемой группы с непереносимостью пищевых красителей/пищевой аллергией в анамнезе изменения абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ клеток более 30% регистрировались в 83% случаев: повышение - у 25%, понижение - у 58% человек.

Дополнительным показателем для оценки провокационной пробы рассматривалось исходное относительное количество IgE⁺CD203c⁺ базофилов от всех IgE⁺ клеток более 3,84% (чувствительность 36%, специфичность 100%). Такому критерию соответствовали 11 / 46% обследуемых, почти исключительно (92% случаев) лица с верифицированными аллергическими заболеваниями. Изменение этого показателя более чем на 30% после провокации аллергеном наблюдалось у 38% человек, все из группы лиц с аллергией в анамнезе (у 40% - повышался, у 60% - снижался).

С учетом двух показателей (абсолютное количество IgE⁺CD203c⁺ клеток и их процент от всех IgE⁺ лейкоцитов) у 17 из 23 человек (74%) с отягощенным аллергоанамнезом и установленным диагнозом аллергического заболевания наблюдались изменения более 30%

после провокации с предполагаемым причинно-значимым аллергеном: в 54% случаев после пробы с аллергеном домашней пыли; в 83% случаев после пробы с пищевым красителем.

Положительные кожные пробы на бытовые и/или пыльцевые и/или пищевые аллергены коррелировали с изменением абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ клеток после пероральной провокационной пробы с аллергеном (Factorial ANOVA: F=9,6, p=0,01).

Обнаружена достоверная умеренная положительная корреляция (Sp Corr >60%, p<0,05) между изменением абсолютного количества IgE⁺CD203c⁺ базофилов и уровнем IgE^{bright+} клеток и их относительным количеством от всех IgE⁺ клеток.

Роль базофилов, связавших IgE, в развитии аллергических реакций в настоящее время активно обсуждается [5, 12]. Как показывают данные исследований, редко уровень свободного IgE адекватно отражает результаты кожного тестирования и/или клинические проявления аллергии [4].

Две основные популяции клеток эффективно связывают IgE своими рецепторами: базофилы и эозинофилы [13]. В проведенном исследовании уровень CD203c⁺ базофилов, связавших IgE, был достоверно выше у людей с подтвержденным диагнозом аллергии, что, безусловно, отражает важность этого показателя для диагностики.

Изменение (прирост либо понижение) абсолютного количества CD203c⁺ базофилов, связавших IgE, после провокационной пробы с аллергеном, мы объясняем двумя вариантами взаимодействия.

Первый вариант: IgE антитела преобладают на клетках, при добавлении аллергена происходит его взаимодействие со связанными

ми антителами и запускается механизм интернализации (переноса внутрь клетки комплекса антиген-антитело-рецептор), и количество $IgE^+CD203c^+$ базофилов снижается.

Второй вариант: IgE антитела преобладают в сыворотке крови, при добавлении аллергена происходит его взаимодействие со свободными антителами, что приводит к изменению гидрофильных свойств свободных антител, которые в комплексе с аллергеном становятся гидрофобными [14], быстро связываются с гидрофобными частями рецептора на поверхности клеток, что обуславливает прирост количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов в этот временной промежуток [15]. В литературе имеются сообщения о предотвращении интернализации и деградации высокоаффинного рецептора свободным сывороточным IgE , а также накопление рецепторов на поверхности клеток в присутствии последнего [16, 17]. Предшествующая экспозиция IgE уменьшает концентрацию антигена, необходимую для запуска дегрануляции базофила, и увеличивает выброс медиаторов после провокации аллергеном [18].

При любом развитии событий базофилы, связавшие IgE , а также изменение их количества после взаимодействия с причинно-значимым аллергеном, являются важным диагностическим признаком у лиц с аллергопатологией и требуют более пристального внимания и дальнейшего изучения.

Заключение

1. Количество $IgE^+CD203c^+$ базофилов, их процент от общего количества клеток крови, а также количество клеток высоко экспрессирующей IgE у лиц с верифицированными аллергическими заболеваниями выше, чем у людей без аллергопатологии.

2. Количество $IgE^+CD203c^+$ базофилов более 10 на 30000 клеток и их уровень от всех IgE^+ клеток более 3,84% являются значимыми показателями для диагностики аллергопатологии.

3. Существует обратная зависимость между исходным уровнем $IgE^+CD203c^+$ клеток и его изменением после пероральной провокационной пробы с причинно-значимым аллергеном. У больных с аллергией в 78% случаев наблюдается изменение (более чем на 30%) аб-

солютного количества $IgE^+CD203c^+$ клеток и их количества от уровня всех IgE^+ лейкоцитов: в 30% случаев – увеличение при исходно пониженном уровне, в 48% случаев – снижение при исходно более высоком уровне.

4. Пищевые красители (тартразин и /или диоксид титана) чаще вызывают изменение фенотипа лейкоцитов, чем аллерген домашней пыли: в 83% – после пробы с пищевым красителем, по сравнению с 54% случаев после пробы с аллергеном домашней пыли.

5. Положительные кожные пробы коррелируют с изменением абсолютного количества $IgE^+CD203c^+$ базофилов после пероральной провокационной пробы с аллергеном.

Литература

1. Basophils and allergic inflammation / M. C. Siracusa [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013 Oct. – Vol. 132, N 4. – P. 789–788.
2. Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis / S. H. He [et al.] // *Acta. Pharmacol. Sina.* – 2013 Oct. – Vol. 34, N 10. – P. 1270–1283.
3. Roles for the High Affinity IgE Receptor, $Fc\epsilon RI$, of Human Basophils in the Pathogenesis and Therapy of Allergic Asthma: Disease Promotion, Protection or Both? / L. A. Youssef [et al.] // *Open. Allergy. J.* – 2010. – Vol. 3. – P. 91–101.
4. Hamilton, R. G. Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity / R. G. Hamilton // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010 Feb. – Vol. 125, N 2, suppl. 2. – P. S284–S296.
5. Relationships between levels of serum IgE , cell-bound IgE , and IgE -receptors on peripheral blood cells in a pediatric population / E. Dehlink [et al.] // *PLoS ONE.* – 2010 Aug. – Vol. 5, N 8. – P. e12204.
6. Marked improvement of the basophil activation test by detecting $CD203c$ instead of $CD63$ / R. Boumiza [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2003 Feb. – Vol. 33, N 2. – P. 259–265.
7. Buhning, H. J. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 ($CD203c$) as a marker for cell activation and allergy diagnosis / H. J. Buhning, A. Streble, P. Valent // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2004 Apr. – Vol. 133, N 4. – P. 317–329.
8. Differential response of human basophil activation markers: a multi-parameter flow cytometry approach / S. Chirumbolo [et al.] // *Clin. Mol. Allergy.* – 2008 Oct. – Vol. 6. – P. 12.
9. Basophil markers for identification and activation in the indirect basophil activation test by flow cytometry for diagnosis of autoimmune urticaria / Z. Kim [et al.] // *An. Lab. Med.* – 2016 Jan. – Vol. 36, N 1. – P. 28–35.
10. The synthesis of peptide fragments of high affinity receptor $Fc\epsilon RI$ and their binding to allergen - specific immunoglobulins E / O. V. Gribovskaya [et al.] // *Rus.*

- J. Bioorg. Chem. – 2012. – Vol. 38, N 3. – P. 253–260.
11. Янченко, В. В. Оценка связывания базофилами синтетического пептида – фрагмента активного центра высокоаффинного рецептора иммуноглобулина E / В. В. Янченко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 4. – С. 27–34.
 12. Maternal allergy is associated with surface-bound IgE on cord blood basophils / A. P. Matson [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2013 Sep. – Vol. 24, N 6. – P. 614–621.
 13. Regulation of surface FcεRI expression on human eosinophils by IL-4 and IgE / M. Iikura [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2001 Apr. – Vol. 124, N 4. – P. 470–477.
 14. Ройт, А. Иммунология : пер. с англ. / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М. : Мир, 2000. – 592 с.
 15. The biology of IGE and the basis of allergic disease / H. J. Gould [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 579–628.
 16. Burton, O. T. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases / O. T. Burton, H. C. Oettgen // *Immunol. Rev.* – 2011 Jul. – Vol. 242, N 1. – P. 128–143.
 17. Minimal requirements for IgE-mediated regulation of surface FcεRI / T. A. Borkowski [et al.] // *J. Immunol.* – 2001 Aug. – Vol. 167, N 3. – P. 1290–1296.
 18. IgE enhances mouse mast cell Fc(ε)RI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions / M. Yamaguchi [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1997 Feb. – Vol. 185, N 4. – P. 663–672.

Поступила 18.03.2016 г.

Принята в печать 16.06.2016 г.

References

1. Siracusa MC, Kim BS, Spergel JM, Artis D. Basophils and allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Oct;132(4):789-801.
2. He SH, Zhang HY, Zeng XN, Chen D, Yang PC. Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis. *Acta Pharmacol Sin.* 2013 Oct;34(10):1270-83.
3. Youssef LA, Schuyler M, Wilson BS, Oliver JM3. Roles for the High Affinity IgE Receptor, FcεRI, of Human Basophils in the Pathogenesis and Therapy of Allergic Asthma: Disease Promotion, Protection or Both? *Open Allergy J.* 2010;3:91-101.
4. Hamilton RG. Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S284-96.
5. Dehlink E, Baker AH, Yen E, Nurko S, Fiebiger E. Relationships between levels of serum IgE, cell-bound IgE, and IgE-receptors on peripheral blood cells in a pediatric population. *PLoS One.* 2010 Aug;5(8):e12204.
6. Boumiza R, Monneret G, Forissier MF, Savoye J, Gutowski MC, Powell WS et al. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin Exp Allergy.* 2003 Feb;33(2):259-65.
7. Bühring HJ, Streble A, Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004 Apr;133(4):317-29.
8. Chirumbolo S, Vella A, Ortolani R, De Gironcoli M, Solero P, Tridente G et al. Differential response of human basophil activation markers: a multi-parameter flow cytometry approach. *Clin Mol Allergy.* 2008 Oct;6:12.
9. Kim Z, Choi BS, Kim JK, Won DI. Basophil markers for identification and activation in the indirect basophil activation test by flow cytometry for diagnosis of autoimmune urticaria. *Ann Lab Med.* 2016 Jan;36(1):28-35.
10. Gribovskaya OV, Martinovich VP, Golubovich VP, Yanchenko VV, Vykhristenko LR, Novikov DK. The synthesis of peptide fragments of high affinity receptor FcεRI and their binding to allergen - specific immunoglobulins E. *Rus J Bioorg Chem.* 2012;38(3):253-60.
11. Yanchenko VV. Otsenka svyazyvaniia bazofilami sinteticheskogo peptida – fragmenta aktivnogo tsentra vysokoaffinnogo retseptora immunoglobulina [Evaluation basophils bind a synthetic peptide – a fragment of the active site high affinity immunoglobulin receptor]. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya.* 2015;(4):27-34.
12. Matson AP, Cloutier MM, Dhongade A, Puddington L, Rafti E. Maternal allergy is associated with surface-bound IgE on cord blood basophils. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013 Sep;24(6):614-21.
13. Iikura M, Yamaguchi M, Hirai K, Miyamasu M, Yamada H, Nakajima T et al. Regulation of surface FcεRI expression on human eosinophils by IL-4 and IgE. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001 Apr;124(4):470-7.
14. Royt A, Brostoff Dzh, Meyl D. Immunologiya [Immunology]: per s angl. Moscow, RF: Mir; 2000. 592 p.
15. Gould HJ, Sutton BJ, Bevil AJ, Bevil RL, McCloskey N, Coker HA et al. The biology of IGE and the basis of allergic disease. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:579-628.
16. Burton OT, Oettgen HC. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases. *Immunol Rev.* 2011 Jul;242(1):128-43.
17. Borkowski TA, Jouvin MH, Lin SY, Kinet JP. Minimal requirements for IgE-mediated regulation of surface FcεRI. *J Immunol.* 2001 Aug;167(3):1290-6.
18. Yamaguchi M, Lantz CS, Oettgen HC, Katona IM, Fleming T, Miyajima I et al. IgE enhances mouse mast cell Fc(ε)RI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *J Exp Med.* 1997 Feb;185(4):663-72.

Submitted 18.03.2016

Accepted 16.06.2016

Сведения об авторах:

Аляхнович Н.С. – старший преподаватель кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Янченко В.В. – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Information about authors:

Aliakhnovich N.S. – senior teacher of the Chair of Clinical Immunology & Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»;

Yanchanka U.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Immunology & Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: alyahnovich@bk.ru – Аляхнович Наталья Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Chair of Clinical Immunology & Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: alyahnovich@bk.ru – Aliakhnovich N.S.