

## ЭФФЕКТИВНЫЕ БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ НА ЯБЛОКО И ИХ СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА

ДЕРКАЧ Е.Ф., АЛЯХНОВИЧ Н.С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №6. – С. 77-90.

## EFFECTIVE BIOMARKERS IN THE DIAGNOSIS OF APPLE ALLERGY AND THEIR COMPARATIVE ASSESSMENT

DZIARKACH A.F., ALIAKHNOVICH N.S.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(6):77-90.

### Резюме.

Цель – оценка диагностической эффективности прик-прик теста и уровня триптазы, пероксидазной активности, катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Ca^{2+}$  в ротовой жидкости (РЖ) в качестве биомаркеров пищевой аллергии на яблоко и их сравнительная оценка.

Материал и методы. Обследовано 35 пациентов с аллергическими реакциями в анамнезе на свежее яблоко (исследуемая группа) и 29 здоровых лиц (контрольная группа). Участникам выполнен кожный прик-прик тест с 3-мя сортами свежих яблок и орально-фарингеальный провокационный тест (ОФПТ) со свежеприготовленным яблочным соком с оценкой уровней триптазы, пероксидазной активности и катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Ca^{2+}$  в РЖ.

Результаты. Прик-прик тест был положителен у 94% пациентов. У 70% пациентов после ОФПТ наблюдался значимый прирост уровня триптазы в РЖ по сравнению со здоровыми лицами ( $p=0,000003$ ). После провокации в исследуемой группе в 74% случаев выявлен значимый прирост уровня пероксидазной активности РЖ в сравнении с контрольной группой ( $p<0,0000001$ ). У 81% пациентов обнаружен значимый прирост уровня  $K^+$  в РЖ, в отличие от здоровых лиц после ОФПТ ( $p=0,02$ ). В 67% случаев в исследуемой группе обнаружено достоверное уменьшение уровня  $NH_4^+$  после ОФПТ по сравнению с исходным уровнем катиона в данной группе ( $p=0,039$ ). Пациенты с аллергией на яблоко по анамнезу после провокации показали более высокий уровень катионов  $Ca^{2+}$  в РЖ, чем контроль ( $p=0,02$ ).

Заключение. Выявлены биомаркеры гиперчувствительности к яблокам сортов Голден Делишес, Ред Принц и Белорусское сладкое: положительный прик-прик тест, прирост триптазы, миелопероксидазы, катионов  $K^+$  и снижение уровня  $NH_4^+$  после ОФПТ. Биомаркеры обладают высокой диагностической ценностью и могут использоваться как в сочетании, так и по отдельности для выявления системной и локальной гиперчувствительности и диагностики пищевой аллергии на яблоко.

*Ключевые слова:* орально-фарингеальный провокационный тест, прик-прик тест, биомаркер.

### Abstract.

Objectives. To evaluate the diagnostic efficacy of the prick-test and the levels of tryptase, cations  $K^+$ ,  $NH_4^+$  and  $Ca^{2+}$ , peroxidase activity in the oral fluid (OF) as biomarkers of apple allergy and to comparatively assess them.

Material and methods. We examined 35 patients with a history of allergic reactions to a fresh apple (the study group) and 29 healthy persons (the control group). All participants underwent the prick-test with 3 varieties of fresh apples and oral-pharyngeal provocative test (OPPT) with freshly prepared apple juice with the assessment of tryptase, peroxidase activity,  $K^+$ ,  $NH_4^+$  and  $Ca^{2+}$  cations levels in the OF.

Results. The prick-test was positive in 94% of patients. In 70% of patients after OPPT, there was a significant tryptase level increase in the OF compared with healthy persons ( $p=0.000003$ ). After provocation, in the study group, in 74% of cases, a significant peroxidase activity level increase in the OF was revealed in comparison with the control group ( $p<0.0000001$ ).

A significant  $K^+$  level increase in the oral fluid was found in 81% of patients, in contrast to healthy persons after OPPT ( $p=0.02$ ). In 67% of cases in the study group, a significant  $NH_4^+$  level decrease after OPPT was found in comparison with the initial cation level in this group ( $p=0.039$ ). Patients with a history of apple allergy after provocation showed a higher  $Ca^{2+}$  cations level in the OF than the control ( $p=0.02$ ).

Conclusions. Biomarkers of hypersensitivity to apples of the varieties Golden Delicious, Red Prince and Belarusian sweet were revealed: positive prick-test, an increase of tryptase, myeloperoxidase activity,  $K^+$  cations and a decrease of  $NH_4^+$  level after OPPT. Biomarkers have a high diagnostic value and can be used both in combination and separately to identify systemic and local hypersensitivity and to diagnose food allergy to apples.

*Key words: oral-pharyngeal provocation test, prick-test, biomarker.*

Актуальность пищевой аллергии определяется тяжестью клинического течения, трудностями её диагностики, высокой социальной значимостью проблемы, требующей огромных финансовых затрат на лечение, реабилитацию, организацию социально-бытовых условий и питания пациентов.

Аллергия на яблоко занимает значимое место среди пищевой аллергии на фрукты. Учитывая богатый на витамины, минеральные вещества, пектин и клетчатку состав, яблоко – широко употребляемый фрукт в большинстве стран мира. Клиническая картина пищевой аллергии на яблоко полиморфна: от локальных проявлений в виде синдрома оральной аллергии, ринита, конъюнктивита до тяжелых системных реакций, сопровождающихся крапивницей, ангионевротическими отеками и приступами удушья [1].

Клинические реакции на яблоко обусловлены рядом аллергенных белков, входящих в его состав, – Mal d1, Mal d2, Mal d3 и Mal d4 [2]. До 70% пациентов с поллинозом, а именно с аллергией на пыльцу березы, имеют непереносимость растительной пищи [2]. Основным виновный аллерген, который вызывает перекрестную реакцию более чем у 90% пациентов с аллергией на растительную пищу, связанную с аллергией на пыльцу березы, является Bet v1 [3]. Bet v1 обуславливает кроссреактивность с белком Mal d1, присутствующим в коже и мякоти яблок.

Золотым стандартом диагностики пищевой аллергии является двойной слепой плацебо-контролируемый провокационный тест, который позволяет верифицировать пищевую аллергию по наличию симптомов после употребления причинно-значимого аллергена. Однако при проведении теста не исключаются неспецифические дозозависимые реакции, кроме того, провокация может привести к тяжелым системным реакциям,

вплоть до анафилаксии [3].

Важным является разработка безопасных диагностических тестов и поиск эффективных биомаркеров пищевой аллергии. В настоящий момент основными биомаркерами IgE-опосредованных пищевых реакций являются кожный прик-тест и уровень специфических IgE. Менее широко внедрены в клиническую практику тест активации базофилов и тучных клеток, требующие дорогостоящего оборудования, реактивов и обучения профильных специалистов [4].

Кожный прик-тест является стандартом диагностики IgE-опосредованной пищевой аллергии [4]. Метод предполагает кожное тестирование с экстрактами аллергенов. Однако часто структура экстрактов пищевых аллергенов и натуральных продуктов различается, что является причиной ложноотрицательных кожных проб при наличии пищевой аллергии [5]. Тестирование методом прик-прик (двойной укол) с нативными аллергенами обладает более высокой чувствительностью и специфичностью [6].

Уровень специфических IgE ( $>0,35$  kU/L) в сыворотке крови является показателем сенсибилизации к определенному аллергену либо его компоненту, но не верифицирует болезнь без подтверждающего анамнеза [7]. Специфические IgG образуются в ответ на чужеродные белки (антисыворотки, инфекционные антигены и др.) и могут указывать на некоторые варианты пищевой аллергии. По механизму такие реакции являются иммуннокомплексными и индуцируют васкулиты, кроме того, IgG-антитела могут оказывать цитотоксический эффект на клетки в связи с активацией комплемента и киллерных клеток [7]. IgG-антитела связываются с лейкоцитами через FcγRI и FcγRIII рецепторы и вызывают их активацию. Для диагностики аллергии важно определять IgG, связанные с лейкоцитами, или маркеры активации

клеток. Примером такой *in vitro* диагностики является тест активации базофилов – регистрация маркеров активации и дегрануляции базофилов после контакта с причинными аллергенами [4].

Актуальным является поиск новых биомаркеров пищевой аллергии, позволяющих быстро и эффективно подтвердить диагноз без риска для пациента. В связи с этим мы предлагаем неинвазивный орально-фарингеальный провокационный тест (ОФПТ) с низкой дозой аллергена с последующей оценкой уровня триптазы, пероксидазной активности и катионов калия ( $K^+$ ), аммония ( $NH_4^+$ ) и кальция ( $Ca^{2+}$ ) в ротовой жидкости (РЖ).

Триптаза – сериновая протеаза, выделяющаяся из базофилов и тучных клеток при острых аллергических реакциях. Максимальная концентрация фермента в биологических жидкостях определяется в первые 2 часа после развития клинической реакции. Повышенный уровень триптазы является диагностическим маркером дегрануляции тучных клеток. Впервые это было отмечено у пациентов с анафилаксией [8]. Показано увеличение уровня триптазы после провокационного теста с аллергеном в слезной, бронхоальвеолярной жидкости и назальном секрете [9]. Нами предложена оценка уровня триптазы в РЖ до и после провокации в качестве биомаркера пищевой аллергии.

Миелопероксидаза – фермент, представленный в большом количестве в азурофильных гранулах нейтрофилов (5% от их сухой массы) [10]. После связывания антител на поверхности нейтрофилов с аллергеном происходит их дегрануляция с выделением биологически активных веществ, в том числе – миелопероксидазы. Ранее разработаны методы диагностики различных видов аллергии в реакции выброса миелопероксидазы лейкоцитами крови *in vitro* [10], а также по увеличению пероксидазной активности ротовой жидкости (ПАРЖ) после провокации аллергеном *in vivo* [11]. Мы предлагаем орально-фарингеальный полоскательный тест с раствором яблочного сока в субклинической дозе с последующей оценкой уровня ПАРЖ у пациентов с пищевой аллергией на яблоко.

Патофизиологическим механизмом дегрануляции sensibilizированных лейкоцитов после контакта с аллергеном является поступление катионов  $Ca^{2+}$  внутрь клетки с последующим выбросом катионов  $K^+$  в межклеточное пространство [12]. Также показана связь уровней катионов

$NH_4^+$  и  $K^+$  и их конкурирующая способность [13]. В связи с этим мы определяли уровень данных катионов в ротовой жидкости у пациентов с аллергией.

Оценка уровней катионов в РЖ пациентов с аллергическими заболеваниями представляет особый интерес. Известен способ специфической диагностики лекарственной аллергии, переносимости стоматологических препаратов по оценке выброса катионов  $K^+$  из лейкоцитов крови под влиянием аллергена [14].

Известны различные эффекты катионов  $NH_4^+$ . Накопление  $NH_4^+$  в цитозоле клеток оказывает влияние на мембранный потенциал и работу внутриклеточных ферментов [15]. Продукт связывания аммиака с глутаминовой кислотой – глутамин, является осмотически активным веществом. Это приводит к задержке воды в клетках и их набуханию, что вызывает отёк тканей [15]. Таким образом, оценка уровня  $NH_4^+$  у пациентов с аллергическими заболеваниями может иметь важное диагностическое значение для оценки локального аллергического ответа.

Катионы  $Ca^{2+}$  играют важную патофизиологическую роль в аллергических реакциях.  $Ca^{2+}$  регулируют иммунные ответы, развитие и функцию Т- и В-клеток. Показано, что увеличение уровня свободного внутриклеточного  $Ca^{2+}$  способствует активации клеток [16]. В результате клетка выделяет гистамин, различные протеазы, лейкотриены и простагландины, которые обуславливают развитие клинических симптомов аллергии. Таким образом, уровень  $Ca^{2+}$  можно рассмотреть в качестве маркера активации и дегрануляции лейкоцитов у людей с аллергией.

Цель исследования – оценка диагностической эффективности прик-прик теста и уровня триптазы, пероксидазной активности, катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Ca^{2+}$  в ротовой жидкости в качестве биомаркеров пищевой аллергии на яблоко.

## Материал и методы

Исследование проведено на базе аллергологического отделения Витебской областной клинической больницы, кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, химико-фармацевтической лаборатории Витебского государственного медицинского университета. Получено разрешение Комитета по этике, протокол №3 от 23 февраля 2019 г.

Обследовано 64 человека. 35 включены в

исследуемую группу – пациенты с хроническими аллергическими заболеваниями (29% – с бронхиальной астмой, 14% – с аллергическим ринитом, 57% – с аллергическим ринитом, конъюнктивитом, вызванным пыльцой растений в сочетании с перекрестной пищевой аллергией на продукты растительного происхождения). Диагнозы установлены в результате стандартного аллергологического обследования, включая кожные пробы с бытовыми/эпидермальными и пыльцевыми аллергенами. Все пациенты отмечали аллергические реакции на яблоко в виде орального аллергического синдрома, ринита, конъюнктивита, крапивницы и приступов удушья. Средний возраст составил 31,5 [27,9;35,0] года, соотношение полов м/ж – 16/19.

29 человек (контрольная группа) – здоровые добровольцы, не имеющие аллергических реакций в анамнезе. Средний возраст составил 31,2 [26,9;35,5] года, м/ж – 12/17.

Все участники подписывали информированное согласие перед началом исследования и заполняли опросник с целью выявления аллергических реакций на бытовые/эпидермальные, пыльцевые, пищевые аллергены, оценки наследственного аллергоанамнеза.

Обследование включало прик-прик тестирование с 3-мя сортами яблок (Голден Делишес, Ред Принц, Белорусское сладкое) и орально-фарингеальный провокационный тест с яблочным соком в концентрации 5 PNU/мл (яблоко Голден Делишес) с последующей оценкой уровня триптазы, пероксидазной активности и катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Ca^{2+}$  в РЖ (табл. 1).

#### Методика кожного тестирования

По разработанной нами методике участникам выполнялся прик-прик тест с яблоком без покровной окраски – сорт Голден Делишес (Польша) и яблоками со смешанной окраской – сорт Ред Принц (Польша) и Белорусское сладкое (Беларусь).

Яблоко мыли теплой водой в течение 1-2 минут. Далее срезали кожуру. В кожуру горизонтально под углом  $180^\circ$  вкалывали прик-ланцет. В очищенную мякоть яблока (без кожуры) прик-ланцет вкалывали вертикально под углом  $90^\circ$ . Прик-ланцет контактировал с аллергеном не менее 5 минут.

Прик-ланцетом с аллергеном выполняли укол в кожу предплечья под углом  $90^\circ$ , удерживая в коже в течение 5 секунд, затем поворачивали на  $180^\circ$  и извлекали из кожи.

Прик-тест с контрольными растворами (0,01% раствор гистамина, тест-контрольная жидкость/0,9% раствор натрия хлорида) выполняли аналогичным образом с поворотом прик-ланцета в коже через капли растворов контролей и последующим извлечением.

Результат прик-прик теста оценивали через 15-20 минут с регистрацией диаметра волдыря и гиперемии в мм (при оценке площади – в  $mm^2$ ). При отрицательном результате на тест-контрольную жидкость/0,9% раствор натрия хлорида и положительном на 0,01% раствор гистамина производили оценку прик-прик теста с аллергеном. Тест считали положительным при наличии волдыря на тестируемый аллерген диаметром  $\geq 3$  мм (табл. 2).

#### Методика орально-фарингеального провокационного теста (ОФПТ) с аллергеном

Всем участникам исследования выполнен ОФПТ. Побочных реакций при проведении провокационного тестирования не зарегистрировано.

Для ОФПТ использовали свежеприготовленный сок из яблока сорта Голден Делишес. Яблоко мыли теплой водой, затем 50 г фрукта (минимальный общий вес фрукта для открытого пищевого провокационного теста согласно рекомендациям по пищевой аллергии [17]) перетирали и отжимали полученное содержимое. Далее к 0,1 мл цельного сока добавляли 9,9 мл физиологического раствора и получали аллерген в концентрации 5

Таблица 1 – Количество лиц, обследованных в каждом тестировании

Вид теста Группы, к-во людей	Прик-прик тест с яблоком			Орально-фарингеальный провокационный тест с оценкой уровней				
	Голден Делишес	Ред Принц	Белорус. сладкое	Триптаза	ПАРЖ	$K^+$	$NH_4^+$	$Ca^{2+}$
Исследуемая (n)	35	35	15	30	35	21	21	19
Контрольная (n)	29	29	15	12	29	10	9	9

Таблица 2 – Методика оценки результата прик-прик теста

Реакция	Результат	Характеристика реакции
Отрицательная	-	Отсутствует волдырь и гиперемия
Сомнительная	+/-	Гиперемия без волдыря
Слабоположительная	+	Волдырь в области укола 3-5 мм, отчетливо заметный только при натягивании кожи, гиперемия 0-10 мм
Положительная	++	Волдырь в области укола 5-10 мм, окруженный кольцом гиперемии, волдырь заметен без натягивания кожи
Резко положительная	+++	Волдырь 10-15 мм, гиперемия более 10 мм
Очень резко положительная	++++	Волдырь более 10 мм, вокруг псевдоподии или более 15 мм и зона эритемы более 20 мм, общие реакции

PNU/мл (конечная концентрация белка в растворе аллергена определена методом Бредфорда в модификации Седмака и Гросберга) [18].

Исследование проводилось натощак. Пациенты в течение 7 суток до теста не использовали антигистаминные лекарственные средства II поколения, системные глюкокортикостероиды, антилейкотриеновые лекарственные средства; в течение 3 суток до теста не принимали антигистаминные I поколения; в течение 12 часов до провокации не употребляли алкоголь, не курили.

#### *Этапы ОФПТ с аллергеном*

1. Забор РЖ до провокации натощак с предварительным ополаскиванием рта 10 мл физиологического раствора в течение 2 мин. Далее через 15 минут собирали по 1 мл РЖ в 2 микропробирки (проба №1).

2. Ополаскивание ротовой полости 10 мл яблочного сока, разведенного физиологическим раствором до концентрации 5 PNU/мл в течение 4 минут (оптимальное время экспозиции выбрано с учетом пилотных исследований).

3. Сбор РЖ через 40 минут после провокации (проба №2).

4. Центрифугирование всех образцов РЖ 10 минут при 8000 оборотов с последующим фильтрованием через нейлоновые фильтры (при оценке уровня катионов фильтрование проводилось через целлюлозо-ацетатные фильтры).

5. Определение уровня ПАРЖ с добавлением субстрат-хромогенной смеси (тетраметилбензидин и пероксид водорода) на спектрофотометре при длине 450 нм; уровня триптазы при помощи тест-системы Elisa Kit, каталожный номер №E0950Hu; уровня катионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$  и  $Ca^{2+}$  методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-205».

6. Учет результатов.

#### *Статистическая обработка и представление данных*

Статистический анализ проводили в программах Statistica 10,0 и MS Excel. При оценке результатов применяли методы параметрической и непараметрической статистики (критерии Стьюдента (t-test), Вилкоксона (Wilcoxon signed-rank test), Манна-Уитни (M-U test) при достоверности расчета  $p < 0,05$ . Для расчета порога отсечения применялся ROC-анализ. Значение показателей представлены в виде среднего арифметического, доверительного интервала и медианы с величиной интерквартильного размаха.

#### **Результаты**

Пациенты отмечали проявление реакций после употребления в пищу яблок через 5 (мин. время) – 40 минут (макс. время). В исследуемой группе у 64% обследованных аллергия на яблоко проявлялась оральным аллергическим синдромом (жжение, отёк, зуд в области языка, губ, мягкого неба, першение в горле), у 18% пациентов – удушьем, высыпаниями по типу крапивницы и кожным зудом, у 10% реакция проявлялась в виде заложенности носа, слезотечения, 5% отмечали вздутие живота и диарею, 3% – синдром постназального затекания (ощущение «стекания слизи» по задней стенке глотки). Таким образом, клинические проявления аллергии на яблоко полиморфны. Преобладающим являлся синдром оральной аллергии с вовлечением органа-мишени – слизистой оболочки полости рта, языка и глотки.

По данным опросников 50% пациентов исследуемой группы имели в анамнезе аллергические реакции на грушу, 43% – на абрикос, персик, нектарин, фундук, 36% – на арахис, 29% – на кар-

Таблица 3 – Средняя площадь прик-прик теста с мякотью и кожурой яблок Голден Делишес, Ред Принц и Белорусское сладкое в исследуемой группе

Сорт яблока	Ред Принц, n=35		Белорусское сладкое, n=15		Голден Делишес, n=35	
	Кожура	Мякоть	Кожура	Мякоть	Кожура	Мякоть
Площадь, мм <sup>2</sup>	405,0 (120;450)*+	391,5 (98;455)+	254,0 (115;420)*	245,2 (90;394)	260,5 (112;345)	266,5 (98;341)

Примечание: данные представлены как Me (25;75); \*p<0,05 – достоверность различия внутри одного сорта; +p<0,05 – достоверность различия между сортами Ред Принц и Голден Делишес.

тофель и мёд, 11% – на малину, землянику, 8% – на томат, 4% – на морковь. Это говорит о поливалентной пищевой аллергии у данных пациентов и высокой перекрестной реактивности на пищу растительного происхождения.

#### **Результаты прик-прик теста**

Прик-прик тест с яблоками Голден Делишес, Ред Принц и Белорусское сладкое был положителен у 94% пациентов. Среди здоровых добровольцев положительных кожных тестов с яблоками не было получено.

Кожная реакция была более выражена на кожуру яблок со смешанной окраской Ред Принц и Белорусское сладкое, чем на их мякоть (p1=0,002 и p2=0,03 соответственно). Площадь прик-прик теста с кожурой (p1=0,04) и мякотью (p2=0,01) яблока со смешанной окраской Ред Принц была больше, чем с кожурой и мякотью яблока без покровной окраски Голден Делишес и достоверно не отличалась от таковых показателей яблока Белорусское сладкое (p1=0,95 и p2=0,92 соответственно).

Наиболее выраженными аллергенными свойствами обладало яблоко со смешанной окраской Ред Принц. Это могло быть обусловлено наиболее яркой окраской яблока и наличием большого количества пигмента. По результатам прик-прик тестирования кожура данного сорта оказывала более сенсибилизирующее действие, чем мякоть (p=0,002).

Достоверных различий между кожной аллергической реакцией на яблоко польской (Ред Принц, Голден Делишес) и белорусской (Белорусское сладкое) селекции не выявлено. Средняя площадь прик-прик теста с 3 сортами яблок представлена в таблице 3.

Таким образом, прик-прик тест можно рассматривать в качестве высокоэффективного

биомаркера пищевой аллергии на яблоко (в 94% случаев). Положительный результат прик-прик теста подтверждает системную (кожную) гиперчувствительность к исследуемому фрукту.

#### **Результаты ОФПТ**

Для выявления локальной гиперчувствительности к яблоку проведен ОФПТ с яблочным соком в концентрации 5 PNU/мл с последующей оценкой уровня триптазы, пероксидазной активности и катионов K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> в РЖ.

#### **Уровень триптазы в ротовой жидкости**

В исследуемой и контрольной группах исходный уровень триптазы в РЖ достоверно не различался (p=0,61).

В исследуемой группе средний уровень триптазы в РЖ до провокации составил M=3,78 [3,23;4,32] нг/мл, а через 40 минут после достоверно повышался до M=5,46 [4,85;6,06] нг/мл, p=0,0001 (рис. 1).

Оптимальный порог прироста уровня триптазы в РЖ после ОФПТ составил 16 % (ROC-анализ, AUC=0,86, Se=70%, Sp=100%, p<0,05). После провокации у 70% (21/30) пациентов с аллергическими реакциями на яблоко по анамнезу и положительным прик-прик тестом выявлен достоверный прирост уровня триптазы в РЖ по сравнению со здоровыми людьми (p=0,000003) (рис. 2).

В контрольной группе после ОФПТ уровень триптазы достоверно снижался с 4,02 нг/мл до 2,83 нг/мл (p=0,002).

Таким образом, уровень триптазы в ротовой жидкости после провокации является эффективным диагностическим биомаркером пищевой аллергии на яблоко. Увеличение уровня триптазы после ОФПТ указывает на участие базофилов и тучных клеток в иммунном ответе на аллерген

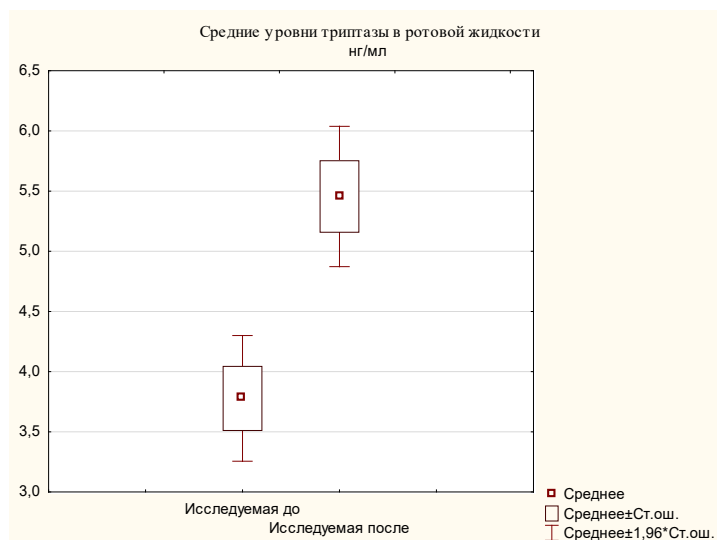


Рисунок 1 – Средние уровни триптазы в ротовой жидкости в исследуемой группе до и после орально-фарингеального провокационного теста с яблочным соком.



Рисунок 2 – Средние уровни триптазы в ротовой жидкости в исследуемой и контрольной группах после орально-фарингеального провокационного теста.

(базофильный тип пищевой аллергии) и подтверждает наличие локальной гиперчувствительности к яблоку.

Следует отметить, что у 57% (12/21) пациентов с приростом уровня триптазы в РЖ после провокации отмечались системные аллергические реакции после употребления в пищу яблок и других пищевых продуктов. Таким образом, уровень триптазы в РЖ ассоциирован с тяжестью клинического течения пищевой аллергии.

В исследуемой группе выявлена корреляция между приростом уровня триптазы в ротовой жидкости после провокации и площадью при-

прик теста с мякотью и кожурой всех 3-х сортов яблок: Голден Делишес ( $R_{sp}=0,71$ ,  $R_{sp}=0,69$ ,  $p<0,05$ , соответственно), Ред Принц ( $R_{sp}=0,64$ ,  $R_{sp}=0,66$ ,  $p<0,05$ , соответственно), Белорусское сладкое ( $R_{sp}=0,74$ ,  $R_{sp}=0,73$ ,  $p<0,05$  соответственно). Это говорит о сочетании гиперчувствительности кожных покровов и слизистой оболочки полости рта.

#### **Уровень пероксидазной активности ротовой жидкости (ПАРЖ)**

Для оценки участия нейтрофилов в патогенезе пищевой аллергии на яблоко была проведена оценка уровня ПАРЖ до и после провокации.

В исследуемой и контрольной группах исходный уровень ПАРЖ достоверно не различался ( $p > 0,05$ ).

После проведения ОФПТ с яблочным соком в исследуемой группе наблюдалось увеличение оптической плотности РЖ с  $M=1,28$  [1,13;1,44] до  $M=1,78$  [1,6;1,95] ( $p < 0,00001$ , рис. 3).

По данным ROC-анализа диагностический порог прироста уровня ПАРЖ равнялся 19% [18]. У 74% (26/35) пациентов с положительным прик-прик тестом наблюдался значимый прирост уровня ПАРЖ после провокации с яблочным соком по сравнению со здоровыми добровольцами ( $p < 0,0000001$ ) (рис. 4).

В контрольной группе после ОФПТ оптическая плотность РЖ достоверно не изменилась (исходная –  $M=1,69$ , конечная –  $M=1,73$ ) ( $p=0,2$ ).

Достоверный прирост уровня ПАРЖ после провокации с аллергеном указывает на активацию нейтрофилов слизистой оболочки полости рта у пациентов с аллергией на яблоко (нейтрофильный тип аллергического воспаления).

### Уровень $K^+$ в ротовой жидкости

Исходный уровень  $K^+$  в РЖ в исследуемой и контрольной группах достоверно не отличался ( $p=0,79$ ). В исследуемой группе средний уровень  $K^+$  в РЖ до провокации составил  $Me=41,9$

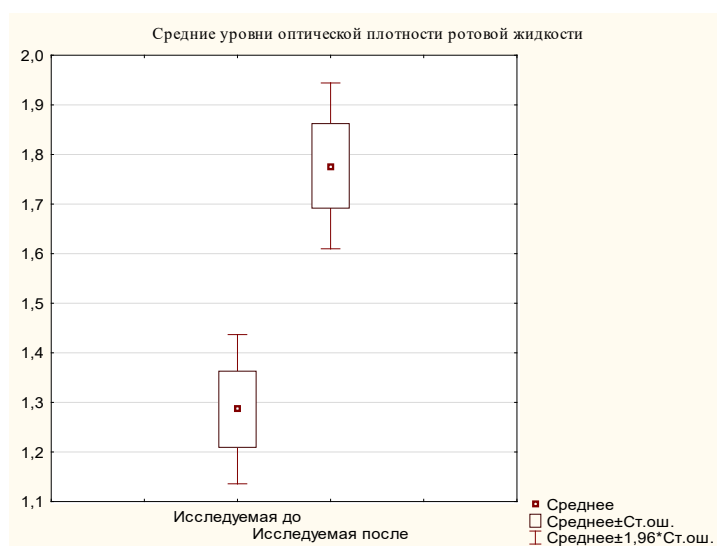


Рисунок 3 – Средние уровни оптической плотности ротовой жидкости до и после орально-фарингеального провокационного теста с яблочным соком в исследуемой группе.



Рисунок 4 – Средние уровни прироста пероксидазной активности ротовой жидкости после орально-фарингеального провокационного теста с яблочным соком в 2-х группах.



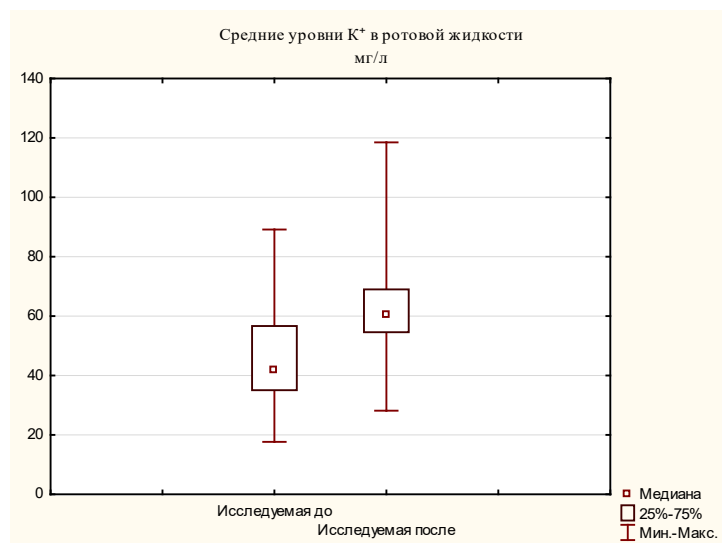


Рисунок 5 – Средние уровни  $K^+$  в ротовой жидкости в исследуемой группе до и после орально-фарингеального провокационного теста с яблочным соком.

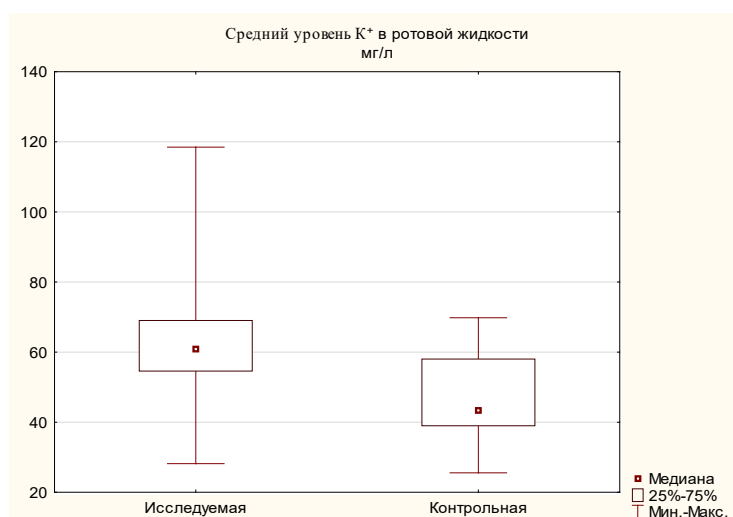


Рисунок 6 – Средний уровень  $K^+$  в ротовой жидкости в исследуемой и контрольной группах после орально-фарингеального провокационного теста.

(35,1;56,7) мг/л, а через 40 минут после ОФПТ достоверно увеличился до  $Me=60,6$  (54,6;69,0) мг/л ( $p=0,0001$ ) (рис. 5).

По данным ROC-анализа диагностически значимый прирост уровня  $K^+$  у пациентов с аллергией на яблоко составил 17% [19]. После ОФПТ у 81% (17/21) пациентов с подтвержденной сенсibilизацией прик-прик тестом выявлен достоверный прирост уровня катионов  $K^+$  по сравнению со здоровыми людьми с отрицательными результатами кожных проб ( $p=0,02$ ) (рис. 6).

Средний уровень  $K^+$  в РЖ у здоровых добровольцев после провокации незначительно снижался, что указывает на нормальную клеточную реак-

цию (с  $Me=46,2$  мг/л до  $Me=41,9$  мг/л) ( $p=0,9$ ).

Таким образом, яблочный сок вызывает аллергензависимое повышение уровня  $K^+$  в слюне пациентов с пищевой аллергией на яблоко вследствие дегрануляции лейкоцитов слизистой оболочки полости рта. Увеличение уровня катионов  $K^+$  после контакта с аллергеном является биомаркером локальной гиперчувствительности к яблоку.

#### **Уровень $NH_4^+$ в ротовой жидкости**

В исследуемой группе исходный уровень  $NH_4^+$  в РЖ был достоверно выше, чем в контроле ( $p=0,019$ ).

Среди пациентов исходный уровень  $NH_4^+$

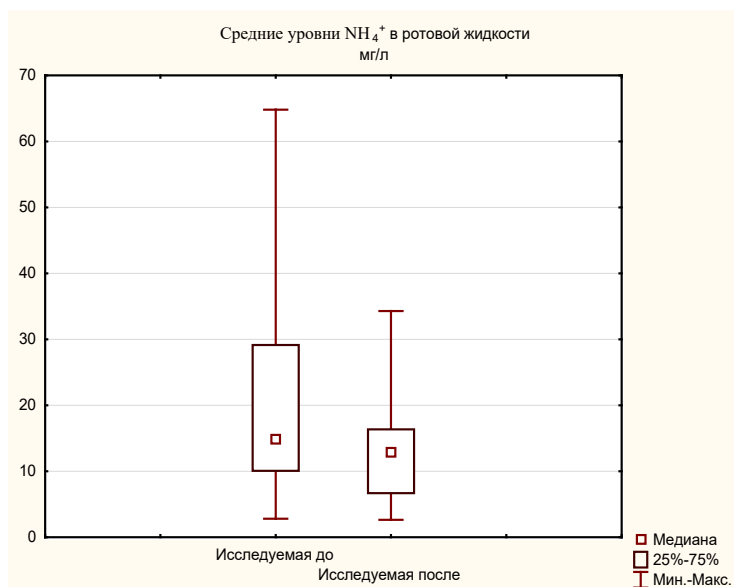


Рисунок 7 – Средние уровни  $\text{NH}_4^+$  в ротовой жидкости в исследуемой группе до и после орально-фарингеального провокационного теста.

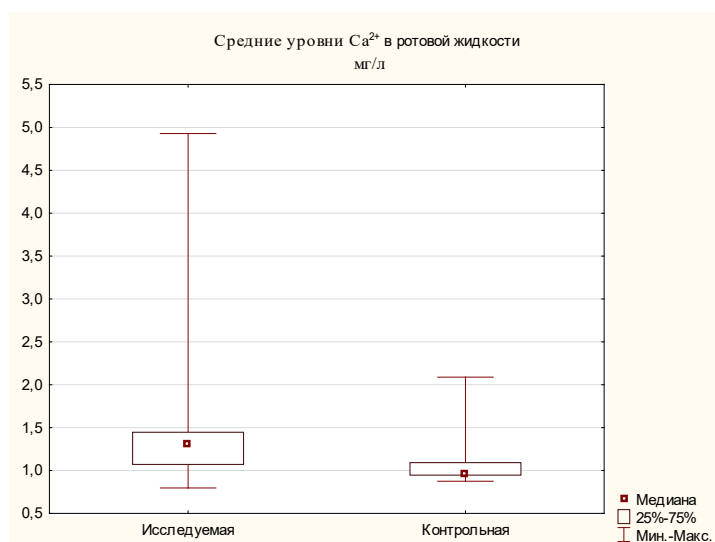


Рисунок 8 – Средние уровни  $\text{Ca}^{2+}$  в ротовой жидкости в исследуемой и контрольной группах после орально-фарингеального провокационного теста.

составил  $Me=14,98(10,1;29,1)$  мг/л, а через 40 минут после провокации у 67% лиц исследуемой группы достоверно уменьшался до  $Me=12,9(6,7;16,4)$  мг/л ( $p=0,039$ ), но не достиг уровня здоровых добровольцев ( $Me=9,0$  мг/л) (рис. 7). Возможно, это связано с измененной проницаемостью клеточных мембран у пациентов с хронической аллергопатологией.

В контрольной группе уровень  $\text{NH}_4^+$  в РЖ до провокации составил  $Me=9,0$  мг/л, через 40 минут после ОФПТ незначительно снижался до  $Me=5,96$  мг/л ( $p=0,17$ ).

Следовательно, яблочный сок после контакта со слизистой оболочкой полости рта и глотки вызывал достоверное снижение уровня  $\text{NH}_4^+$  в слюне у пациентов с пищевой аллергией на яблоко. У 50% пациентов исследуемой группы обнаружено параллельное достоверное увеличение  $\text{K}^+$  и уменьшение  $\text{NH}_4^+$  после провокации с яблочным соком, что является биомаркерами локальной гиперчувствительности к яблоку.

#### **Уровень $\text{Ca}^{2+}$ в ротовой жидкости**

Исходный уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в исследуемой и

контрольной группах достоверно не отличался ( $p=0,17$ ). В исследуемой группе средний уровень катионов  $Ca^{2+}$  в РЖ составил  $Me=1,09$  (0,9;1,3) мг/л, а через 40 минут после ОФПТ яблочным соком достоверно не изменился  $Me=1,31$  (1,1;1,4) мг/л ( $p=0,31$ ).

После ОФПТ у пациентов с подтвержденной кожным тестированием сенсibilизацией к яблоку уровень катионов  $Ca^{2+}$  в РЖ был достоверно выше по сравнению с контролем, что отражает аллергическое воспаление слизистой оболочки полости рта ( $p=0,02$ ) (рис. 8).

Средний уровень катионов  $Ca^{2+}$  в контрольной группе до провокации составил  $Me=1,06$  мг/л, а через 40 минут незначительно снизился до  $Me=0,96$  мг/л, что указывает на нормальную реакцию у здоровых людей ( $p=0,37$ ).

### Обсуждение

Для диагностики пищевой аллергии предложены высокочувствительные методы: прик-прик тест со свежим яблоком и орально-фаринге-

альный провокационный тест с яблочным соком.

Для оценки эффективности предлагаемых биомаркеров выполнен их сравнительный анализ у одних и тех же участников исследования (табл. 4).

У 90% лиц (18/20) выявлена системная гиперчувствительность к яблоку при помощи прик-прик теста. Это говорит о высокой диагностической ценности предлагаемого метода в случае пациентов с аллергией на яблоко. Прик-прик тест со свежими фруктами может использоваться для диагностики как клинически значимой пищевой аллергии, так и латентной сенсibilизации.

У 10% лиц (2 случая из 20 пациентов) диагностирована локальная гиперчувствительность к яблоку, при отрицательном прик-прик тесте. В первом случае были положительны 3 биомаркера (увеличение уровня триптазы, миелопероксидазы, катионов  $K^+$ ), во втором – 1 биомаркер (увеличение уровня  $K^+$ ). Таким образом, при получении отрицательного результата прик-прик теста может быть использован орально-фарингеальный провокационный тест с оценкой любого из биомаркеров локальной гиперчувствительности

Таблица 4 – Сравнительная оценка диагностических биомаркеров после провокации в одной группе людей ( $n=20$ )

№	Прик-прик тест («+» положительный «-» отрицательный результат)	Прирост уровня триптазы («+» положительный «-» отрицательный результат)	Прирост уровня ПАРЖ («+»положительный «-» отрицательный результат)	Прирост уровня $K^+$ , («+» положительный «-» отрицательный результат)
1.	+	+	+	+
2.	+	+	+	+
3.	-	+	+	+
4.	+	+	+	+
5.	+	-	-	+
6.	+	+	+	-
7.	+	-	+	+
8.	+	-	+	-
9.	+	+	+	-
10.	+	-	+	+
11.	-	-	-	+
12.	+	+	+	+
13.	+	-	-	+
14.	+	+	+	-
15.	+	+	+	+
16.	+	+	+	+
17.	+	+	+	+
18.	+	+	-	+
19.	+	+	-	+
20.	+	+	+	+

(триптаза, миелопероксидаза,  $K^+$ ).

Обнаружено, что у 40% (8/20) пациентов все тесты были положительны, что свидетельствует о сочетании локальной и системной гиперчувствительности к яблоку. При этом данные лица отмечали как локальные симптомы пищевой аллергии на яблоко (синдром оральной аллергии), так и системные (удушье, крапивница). Следует отметить, что случаев с отрицательным результатом одновременно всех показателей не было зарегистрировано, что говорит о высокой чувствительности и специфичности предложенных методов.

Процентное соотношение положительных результатов диагностических биомаркеров среди 20 лиц составило: 90% – положительный прик-прик тест, 70, 75 и 80% – увеличение уровня триптазы, миелопероксидазы и увеличение катионов  $K^+$  соответственно. Это указывает на высокую диагностическую эффективность предложенных биомаркеров. Уменьшение уровня катионов  $NH_4^+$  можно рассматривать в качестве дополнительного диагностического биомаркера.

Оценка уровня ключевых биомаркеров является неотъемлемой частью лечебно-диагностической тактики у пациентов с пищевой аллергией и может быть рекомендована в качестве обязательного метода для мониторинга эффективности проводимого лечения.

## Заключение

1. Выявлены высокочувствительные и специфичные биомаркеры системной и локальной гиперчувствительности к яблокам сортов Голден Делишес, Ред Принц и Белорусское сладкое: положительный прик-прик тест со свежими фруктами, прирост триптазы, миелопероксидазы, катионов  $K^+$  и снижение уровня  $NH_4^+$  после орально-фарингеального теста.

2. При помощи прик-прик теста подтверждена системная гиперчувствительность к яблоку у 94% пациентов. Наиболее аллергенными свойствами обладало яблоко со смешанной окраской Ред Принц ( $p=0,002$ ). Кожура яблок Ред Принц и Белорусское сладкое оказывала более сенсibilизирующее действие, чем мякоть ( $p_1=0,002$ ,  $p_2=0,03$ ).

3. Обнаружено достоверное увеличение уровня триптазы в ротовой жидкости после провокации с яблочным соком в исследуемой группе по сравнению со здоровыми лицами ( $p=0,000003$ ).

Это является биомаркером базофильного воспаления слизистой оболочки полости рта и локальной гиперчувствительности к яблоку. Выявлена корреляция между уровнем триптазы в ротовой жидкости и площадью прик-прик теста с яблоками сортов Голден Делишес ( $R_{sp}=0,71$ ,  $R_{sp}=0,69$ ,  $p<0,05$ ), Ред Принц ( $R_{sp}=0,64$ ,  $R_{sp}=0,66$ ,  $p<0,05$ ) и Белорусское сладкое ( $R_{sp}=0,74$ ,  $R_{sp}=0,73$ ,  $p<0,05$ ), что указывает на взаимосвязь гиперчувствительности кожных покровов и слизистой оболочки полости рта.

4. Выявлено достоверное повышение уровня пероксидазной активности ротовой жидкости после орально-фарингеального теста с яблочным соком у лиц с пищевой аллергией на яблоко по сравнению со здоровыми людьми, что указывает на участие нейтрофилов в аллергическом воспалении слизистой оболочки полости рта и является биомаркером локальной гиперчувствительности к яблоку ( $p<0,0000001$ ).

5. Определено одновременное достоверное увеличение уровня катионов  $K^+$  ( $p=0,0001$ ) и снижение уровня  $NH_4^+$  ( $p=0,039$ ) в ротовой жидкости после провокации с яблочным соком в исследуемой группе, что является критерием аллерген-зависимой дегрануляции лейкоцитов слизистой оболочки полости рта и позволяет рассматривать данные показатели в качестве биомаркеров локальной гиперчувствительности к яблоку.

6. После орально-фарингеального провокационного теста у пациентов с подтвержденной кожным тестированием сенсibilизацией к яблоку уровень катионов  $Ca^{2+}$  в ротовой жидкости достоверно выше по сравнению со здоровыми лицами, что отражает аллергическое воспаление слизистой оболочки полости рта ( $p=0,02$ ).

7. Кожный прик-прик тест с яблоками, орально-фарингеальный провокационный тест с оценкой уровней триптазы, миелопероксидазы, катионов  $K^+$  и  $NH_4^+$  в ротовой жидкости показали высокий процент положительных результатов и могут использоваться как в сочетании для диагностики различных механизмов пищевой аллергии, так и по отдельности.

## Литература

1. Vieths, S. Current understanding of Cross-reactivity of Food Allergens and Pollen / S. Vieths, S. Sicherer, B. Ballmer-Weber // Ann. N. Y. Acad.Sci. – 2002 May. – Vol. 964. – P. 47–68.
2. Kiewning, D. Effects of long-term storage on Mal d1 content of four apple cultivars with initial low Mal d1

- content / D. Kiewning, M. Schmitz-Eiberger // J. Sci. Food Agric. – 2014 Mar. – Vol. 94, N 4. – P. 798–802.
3. Brown, C. E. The prevalence of the oral allergy syndrome and pollen-food syndrome in an atopic paediatric population in south-west Sydney / C. E. Brown, C. H. Katelaris // Paediatr. Child Health. – 2014 Oct. – Vol. 50, N 10. – P. 795–800.
  4. Foong, R. X. Biomarkers of diagnosis and resolution of food allergy / R. X. Foong, A. Santos // Pediatr. Allergy Immunol. – 2021 Feb. – Vol. 32, N 2. – P. 223–233.
  5. The skin prick test – European standards / L. Heinzerling [et al.] // Clin. Transl. Allergy. – 2013 Feb. – Vol. 3, N 1. – P. 3.
  6. Peters, R. L. The predictive value of skin prick testing for challenge-proven food allergy: a systematic review / R. L. Peters, L. C. Gurrin, K. J. Allen // Pediatr. Allergy Immunol. – 2012 Jun. – Vol. 23, N 4. – P. 347–352.
  7. Новиков, П. Д. Диагностика аллергии и гиперчувствительности: ведущее значение клеточных методов / П. Д. Новиков, Д. К. Новиков, Н. Д. Титова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 4. – С. 25–39.
  8. Lee, A. Y. S. Elevated Serum Tryptase in Non-Anaphylaxis Cases: A Concise Review / A. Y. S. Lee // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2020. – Vol. 181, N 5. – P. 357–364.
  9. Щурок, И. Н. Диагностика фенотипов аллергического ринита / И. Н. Щурок, Д. К. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2018. – № 3. – С. 69–77.
  10. Новиков, П. Д. Диагностика аллергии в реакции выброса миелопероксидазы под влиянием аллергена / П. Д. Новиков, Н. Д. Новикова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2002. – № 1. – С. 63–68.
  11. Аляхнович, Н. С. Метод диагностики аллергии на пищевые красители по увеличению пероксидазной активности в слюне / Н. С. Аляхнович, В. В. Янченко, Д. К. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 3. – С. 108–114.
  12. Nguyen, T. Role of Ca<sup>2+</sup>/K<sup>+</sup> ion exchange in intracellular storage and release of Ca<sup>2+</sup> / T. Nguyen, W. C. Chin, P. Verdugo // Nature. – 1998 Oct. – Vol. 395, N 6705. – P. 908–912.
  13. Weiner, D. I. Role of NH<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporters in renal acid-base transport / D. I. Weiner, J. W. Verlander // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2011 Jan. – Vol. 300, N 1. – P. F11–F23.
  14. Янченко, В. В. Применение теста выброса ионов кальция для диагностики и профилактики аллергических осложнений лекарственной терапии / В. В. Янченко, Д. К. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 1999. – № 1. – С. 67–69.
  15. Weiner, D. I. Ammonia Transporters and Their Role in Acid-Base Balance / D. I. Weiner, J. W. Verlander // Physiol. Rev. – 2017 Apr. – Vol. 97, N 2. – P. 465–494.
  16. Middleton, E. Antiasthmatic drug therapy and calcium ions: review of pathogenesis and role of calcium / E. Middleton // J. Pharm. Sci. – 1980 feb. – Vol. 69, N 2. – P. 243–251. J Pharm Sci. 1980 Feb;69(2):243-51. doi: 10.1002/jps.2600690244.
  17. Ebisawa, M. Japanese guidelines for food allergy 2017 / M. Ebisawa, K. Ito, T. Fujisawa // Allergol. Int. – 2017 Apr. – Vol. 66, N 2. – P. 248–264.
  18. Мацко, Е. Ф. Повышение пероксидазной активности ротовой жидкости на яблочный сок у пациентов с положительным прик-прик тестом / Е. Ф. Мацко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2020. – № 2. – С. 41–49.
  19. Мацко, Е. Ф. Изменение уровней катионов калия, аммония и кальция в ротовой жидкости после низкодозового орально-фарингеального провокационного теста у пациентов с аллергией на яблоки / Е. Ф. Мацко, Д. К. Новиков, В. И. Фадеев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2020. – № 2. – С. 69–76.

Поступила 28.10.2021 г.

Принята в печать 10.12.2021 г.

## References

1. Vieths S, Sicherer S, Ballmer-Weber B. Current understanding of Cross-reactivity of Food Allergens and Pollen. Ann N Y Acad Sci. 2002 May;964:47-68. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04132.x
2. Kiewning D, Schmitz-Eiberger M. Effects of long-term storage on Mal d1 content of four apple cultivars with initial low Mal d1 content. J Sci Food Agric. 2014 Mar;94(4):798-802. doi: 10.1002/jsfa.6448
3. Brown CE, Katelaris CH. The prevalence of the oral allergy syndrome and pollen-food syndrome in an atopic paediatric population in south-west Sydney. Paediatr Child Health. 2014 Oct;50(10):795-800. doi: 10.1111/jpc.12658
4. Foong RX, Santos A. Biomarkers of diagnosis and resolution of food allergy. Pediatr Allergy Immunol. 2021 Feb;32(2):223-233. doi: 10.1111/pai.13389
5. Heinzerling L, Mari A, Bergmann K-C, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test – European standards. Clin Transl Allergy. 2013 Feb;3(1):3. doi: 10.1186/2045-7022-3-3
6. Peters RL, Gurrin LC, Allen KJ. The predictive value of skin prick testing for challenge-proven food allergy: a systematic review. Pediatr Allergy Immunol. 2012 Jun;23(4):347-52. doi: 10.1111/j.1399-3038.2011.01237.x
7. Novikov PD, Novikov DK, Titova ND. Allergy and Hypersensitivity Diagnostics: The Leading Importance of Cellular Methods. Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya. 2016;(4):25-39. (In Russ.)
8. Lee AYS. Elevated Serum Tryptase in Non-Anaphylaxis Cases: A Concise Review. Int Arch Allergy Immunol. 2020;181(5):357-364. doi: 10.1159/000506199
9. Shchurok IN, Novikov DK. Diagnostics of the phenotypes of allergic rhinitis. Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya. 2018;(3):69-77. (In Russ.)
10. Novikov PD, Novikova ND. Diagnostics of the allergy in the reaction of myeloperoxidase release under the influence of an allergen. Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya. 2002;(1):63-8. (In Russ.)
11. Aliakhnovich NS, Ianchenko VV, Novikov DK. A method for diagnosing allergy to food dyes by increasing the peroxidase activity in saliva. Immunopatologiya

- Allergologiya Infektologiya. 2015;(3):108-14. (In Russ.)
12. Nguyen T, Chin WC, Verdugo P. Role of Ca<sup>2+</sup>/K<sup>+</sup> ion exchange in intracellular storage and release of Ca<sup>2+</sup>. *Nature*. 1998 Oct;395(6705):908-12. doi: 10.1038/27686
  13. Weiner DI, Verlander JW. Role of NH<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporters in renal acid-base transport. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011 Jan;300(1):F11-23. doi: 10.1152/ajprenal.00554.2010
  14. Ianchenko VV, Novikov DK. Application of the Potassium Ion Burst Test for Diagnosis and Prevention of Allergic Complications of Drug Therapy. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 1999;(1):67-9. (In Russ.)
  15. Weiner DI, Verlander JW. Ammonia Transporters and Their Role in Acid-Base Balance. *Physiol Rev*. 2017 Apr;97(2):465-494. doi: 10.1152/physrev.00011.2016
  16. Middleton E. Antiasthmatic drug therapy and calcium ions: review of pathogenesis and role of calcium. *J Pharm Sci*. 1980 Feb;69(2):243-51. doi: 10.1002/jps.2600690244.
  17. Ebisawa M, Ito K, Fujisawa T. Japanese guidelines for food allergy 2017. *Allergol Int*. 2017 Apr;66(2):248-264. doi: 10.1016/j.alit.2017.02.001
  18. Matcko EF. Increased peroxidase activity of oral fluid for apple juice in patients with positive prick-prick test. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2020;(2):41-9. (In Russ.)
  19. Matsko EF, Novikov DK, Fadeev VI. Changes in the levels of cations of potassium, ammonium and calcium in the oral fluid after a low-dose oral-pharyngeal challenge test in patients with apple allergy. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2020;(2):69-76. (In Russ.)

Submitted 28.10.2021

Accepted 10.12.2021

#### Сведения об авторах:

Деркач Е.Ф. – ассистент кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9946-0132>;

Аляхнович Н.С. – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9533-8914>.

#### Information about authors:

*Dziarkach A.F. – lecturer of the Chair of General Medical Practice, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9946-0132>;*

*Aliakhnovich N.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Immunology and Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9533-8914>.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра общей врачебной практики. E-mail: elena.matsko@mail.ru – Деркач Елена Францевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of General Medical Practice. E-mail: elena.matsko@mail.ru – Alena F. Dziarkach.