

**На правах рукописи**

**ФЕДОРОВА**  
**Ольга Сергеевна**

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ  
В МИРОВОМ ОЧАГЕ ОПИСТОРХОЗА**

**14.01.08 – педиатрия**

**Автореферат**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**доктора медицинских наук**

**Томск - 2010**



## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Согласно данным официальной статистики аллергической патологией страдает до 50% населения различных регионов мира. При этом пищевая аллергия (ПА) занимает лидирующую позицию в структуре причин тяжелых форм аллергии, а также смерти в результате анафилаксии, являясь триггером 30-50% всех острых аллергических состояний, требующих госпитализации в отделения неотложной терапии [Балаболкин И.И., 2002; Лусс Л.В., 2005; Roberts G., 2007; Sampson H.A. 2004]. В большинстве случаев к пубертатному периоду пищевая сенсibilизация подвергается регрессии, однако, аллергия на некоторые антигены пищи отличается особым упорством течения. Существенному росту распространенности нежелательных реакций, ассоциированных с употреблением пищевых продуктов и сложностью контроля данной патологии, во многом способствуют современные тенденции развития пищевой индустрии. Так, наиболее важные аллергены включены в рецептуру большинства продуктов питания, выпускаемых пищевой промышленностью (кондитерские и кулинарные изделия, шоколад, продукты системы быстрого питания, чипсы и т.д.) [Borchers A., 2009; Sicherer S.H., 2007]. Однако, изучению вопросов эпидемиологии ПА, а также роли многочисленных факторов риска в ее развитии до настоящего времени не уделялось достаточного внимания.

В практической медицине состояния и синдромы, связанные с употреблением продуктов питания и различные по механизмам развития, ошибочно фигурируют под диагнозом ПА [Keil T., 2007]. Отсутствие четких критериев диагностики приводит к нерациональному использованию диагностических мероприятий и несовершенству стандартов терапии. При этом анализ данных официальной статистики также сопряжен с трудностями в связи с отсутствием диагноза «Пищевая аллергия» в Международной классификации болезней 10-го пересмотра и использованием в реальной педиатрической практике диагнозов, характеризующих клинические проявления болезни («Атопический дерматит», «Острая крапивница» и т.д.).

Термин «пищевая аллергия» рекомендован Всемирной Аллергологической Организацией к использованию в тех ситуациях гиперчувствительности к пищевым продуктам, когда подтверждены иммунологические механизмы развития болезни [A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from EAACI nomenclature task force. Allergy, 2001]. В настоящее время стандартом диагностики клинически значимой ПА являются двойные слепые плацебо-контролируемые провокационные тесты с причиннозначимыми пищевыми аллергенами. Однако, в реальной клинической практике они могут быть сопряжены как с риском системных нежелательных реакций, так и ложноотрицательными результатами – при нарушении техники их выполнения и лабильности аллергенов [Vock S.A., 1998; Sampson H.A., 2004]. В этой связи, с целью подтверждения иммуноглобулин Е (IgE) -зависимого механизма развития ПА наиболее часто используется кожное аллерготестирование и оценка содержания

специфического IgE сыворотки крови. Результаты стандартизации реагентов для определения специфического IgE позволили производителям рекомендовать к использованию для верификации сенсibilизации показатели специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л, поскольку этот критерий обладает высокой чувствительностью, специфичностью и положительной предиктивной значимостью [Paganelli, 1998]. Напротив, диагностическая ценность результатов кожного алерготестирования является предметом дискуссий. Существуют рекомендации по использованию в качестве положительного результата кожных прик-тестов (КПТ) среднего диаметра папулы  $\geq 3$  мм, однако, различные исследователи указывают на возможность использования в качестве диагностически значимых результатов КПТ при размере папулы, соответствующем  $\geq 1$  мм,  $\geq 2$  мм,  $\geq 5$  мм,  $\geq 8$  мм [Allergen standardization and skin tests. EAACI position paper, 1993; Eigenmann P.A., 1998; Maitra A., 2005; Ronchetti R., 1998]. При этом опубликованы данные, указывающие на снижение интенсивности кожной реактивности при воздействии ряда факторов, среди которых важное значение имеют гельминтные инвазии [Araujo M.I., 2000; Rodrigues L.C., 2008; Strachan D.P., 1999].

Распространенность аллергических болезней, в том числе пищевой сенсibilизации, варьирует в разных странах в зависимости от социально-экономических условий и многочисленных внешнесредовых факторов [Savelkoul H.F., 2006; Romagnani S., 2004; Yazdanbakhsh M., 2004]. С позиции «гигиенической гипотезы» различные социальные и экологические факторы, включая стиль жизни населения, наличие инфекций и гельминтных инвазий, влияют на риск развития аллергической патологии у лиц, имеющих специфическую сенсibilизацию [Strachan D.P., Sheikh A., 1989]. В связи с тем, что на территории РФ зарегистрировано несколько природных очагов антропонозов - тениаринхоза (Дагестан, Тыва, Саха), описторхоза (бассейны Оби, Иртыша, Волги, Камы, Днепра), дефиллоботриоза (Саха, Красноярский край, Пермская область) и эхинококкоза (Восточная Сибирь), актуальным является изучение роли гельминтных инвазий в развитии аллергической патологии у населения гиперэндемичных по гельминтозам регионах. В последние десятилетия проведено несколько эпидемиологических исследований, посвященных анализу патогенетических и клинических проявлений сочетанной патологии, а именно, - гельминтных инвазий и аллергических заболеваний. Противоречивость полученных данных способствовала раскрытию ключевого значения морфологических особенностей возбудителя (трематоды, нематоды), фазы (острая, хроническая) и массивности инвазии. Так, результаты исследований, проведенных в регионах с высоким уровнем гельминтозов, в большей степени вызываемых трематодами, свидетельствуют о снижении риска аллергических заболеваний у жителей данных территорий [Medeiros M.Jr., 2003; Cooper P.J., 2003; Britton J.M.D., 2003]. Напротив, при нематодозах (аскаридоз, токсокароз) продемонстрирована тенденция к повышению риска развития астмы [Leonardi-Vee J., 2006]. Имеются данные об ассоциации некоторых гельминтных инвазий

с изменением характера и выраженности сенсibilизации к аэроаллергенам [Lorenzo D.G., 2006].

Накопленные данные позволяют сделать вывод о том, что гельминтные инвазии не всегда выступают в роли полярных антагонистов аллергических заболеваний, а молекулярные основы взаимоотношений данных патологических состояний требуют детального изучения.

Завершенные экспериментальные исследования предоставили важные данные о механизмах модификации аллергического воспаления при гельминтной инвазии [Arruda L. K., 2005; Carvalho E. M., 2006; Wohlleben G., 2004]. При ряде гельминтозов наблюдается экспансия эозинофилов и повышенный уровень IgE, свойственные аллергическим заболеваниям, при этом результаты исследований указывают на снижение вероятности развития аллергии у инвазированных лиц [Trujillo-Vargas C.M., 2006; McConchie B.W., 2006]. Одним из предполагаемых механизмов этого феномена может быть повышенный уровень поликлональных IgE к антигенам гельминтов, насыщающих рецепторы для специфических иммуноглобулинов этого класса на базофилах и тучных клетках и вызывающих их невосприимчивость. Кроме того, при паразитозах наблюдается гиперпродукция иммуноглобулинов G4 (IgG4), блокирующих доступ аллергена к специфическому IgE. Другим возможным механизмом является индукция гельминтами интерлейкина-10 (IL-10) и трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), оказывающих общее супрессорное действие на иммунитет [MacDonald A.S., 2002]. Эти механизмы, с одной стороны, защищают паразитов от иммунного ответа хозяина, с другой стороны, модулируют активность других процессов, в том числе аллергических [Yazdanbakhsh M. 2007].

Многочисленные факты свидетельствуют о способности гельминтных инфекций модифицировать иммунный ответ хозяина, что оказывает существенное влияние на риск развития и клиническое течение аллергии. Однако, существующие на сегодняшний день сведения о механизмах моделирования аллергических заболеваний у лиц с паразитарными заболеваниями недостаточны и требуют глубокого анализа, что особенно актуально для регионов с высокой распространенностью паразитарных инвазий. По официальным данным ФГУЗ Центр гигиены и эпидемиологии, в Томской области до 10-25% населения поражено описторхозом, что обусловлено диетическими традициями употребления в пищу сырой или термически недостаточно обработанной речной рыбы, однако, по результатам проведенных на базе ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава пилотных исследований фактическая распространенность инвазии значительно выше [Балашева И.И., Миронова З.Г., 1992; Огородова Л.М., 2006]. При этом распространенность аллергической патологии значительно выше у жителей города, чем у населения сельских районов [Огородова Л.М., 2006].

Для раскрытия механизмов модификации иммунного ответа при ПА, протекающей на фоне хронического описторхоза у детей в гиперэндемичных

по гельминтной инвазии очагах, требуется проведение эпидемиологического исследования. Результаты настоящей работы послужат необходимой теоретической платформой для создания лекарственных препаратов нового поколения, а также будут иметь мировой приоритет в области разработки инновационных технологий профилактики и терапии аллергической патологии.

**Цель:** установить распространенность, факторы риска, структуру сенсibilизации, особенности клинического течения пищевой аллергии у детей в мировом очаге описторхоза и предложить критерии диагностики болезни.

**Задачи:**

1. На основании эпидемиологического исследования установить распространенность нежелательных реакций, ассоциированных с употреблением продуктов питания, и сопоставить эти данные с распространенностью пищевой аллергии у детей, проживающих в г. Томске и сельских районах Томской области с высокой и низкой частотой описторхозной инвазии.
2. Исследовать структуру сенсibilизации и определить ведущие причиннозначимые аллергены при пищевой аллергии у детей школьного возраста, проживающих в г. Томске и сельских районах Томской области с различной распространенностью инвазии *Opisthorchis felinus*.
3. Представить клиническую характеристику пищевой аллергии у школьников и привести сравнительные данные в группах детей, проживающих в г. Томске и сельских районах Томской области с различной распространенностью инвазии *Opisthorchis felinus*.
4. Выявить факторы риска развития пищевой аллергии у детей.
5. Изучить распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* у детей по результатам копроовоскопии и молекулярно-генетического анализа в г. Томске и Томской области.
6. Оценить влияние *Opisthorchis felinus* на иммунный ответ при пищевой аллергии *in vitro* с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов и анализа продукции цитокинов IL-4, IL-5, IL-10, TGF- $\beta$  мононуклеарами в ответ на различные варианты антигенной стимуляции.
7. На основании полученных данных предложить критерии диагностики пищевой аллергии у детей.

**Научная новизна.** Впервые в российской клинической практике выполнено фундаментальное эпидемиологическое исследование распространенности пищевой аллергии у детей в возрасте 7-10 лет. Впервые показано, что распространенность симптомов, ассоциированных с употреблением продуктов питания у детей, составляет 38,9%. При этом пищевая аллергия подтверждается только у 1,2% детей.

Приоритетными являются данные о клинической характеристике пищевой аллергии. Так, установлено, что основные клинические проявления возникают в первые два часа после употребления причиннозначимого аллергена. Основными симптомами у детей с верифицированным диагнозом

пищевой аллергии являются кожные проявления и оральный аллергический синдром, реже - респираторные и гастроинтестинальные проявления. Ведущими пищевыми аллергенами у детей школьного возраста являются рыба, яблоко, яйцо, морковь, фундук, арахис. Структура сенсibilизации различается в регионах и зависит от диетических традиций населения.

Новыми являются данные о факторах риска развития пищевой аллергии и пищевой сенсibilизации в детском возрасте, полученные в рамках контролируемого фундаментального эпидемиологического исследования, в связи с чем повышается уровень их доказательности. Установлено, что наличие атопии у отца, включая пищевую аллергию, использование смесей для искусственного вскармливания, проживание в течение первых двух лет развития ребенка в городских условиях ассоциированы с повышением риска развития пищевой аллергии у детей, в то время как присутствие домашних животных в доме в раннем возрасте ребенка, в том числе – кошки, наличие старших детей в семье являются протективными в отношении развития пищевой аллергии факторами. Высокая распространенность сенсibilизации к аллергену пыльцы березы в детской популяции имеет важное значение для формирования структуры пищевой сенсibilизации.

Эпидемиологическое исследование предоставило новые данные о распространенности инвазии *Opisthorchis felinus* у детей по результатам копроовоскопии и/или ПЦР-диагностики (полимеразная цепная реакция) - нового метода диагностики, разработанного совместно с Медицинским центром Лейденского Университета, Нидерланды. Так, данный показатель колеблется от 17,0% в г. Томске до 37,3% в сельских районах Томской области.

Впервые проведен анализ особенностей пищевой аллергии у детей в эндемичных по описторхозу очагах. Получены приоритетные мировые результаты, свидетельствующие о том, что распространенность пищевой аллергии у детей выше в регионах с низким уровнем хронического описторхоза, и, напротив, ниже в районах с высоким уровнем инвазии. Для пациентов, имеющих симптомы пищевой аллергии, наличие сопутствующего хронического описторхоза является протективным фактором в отношении повторных рецидивов болезни. Выявлено, что при проведении кожных прик-тестов средний диаметр папулы при использовании гистамина значительно меньше у пациентов с пищевой аллергией, страдающих хроническим описторхозом, чем у больных без паразитоза, что свидетельствует о снижении кожной реактивности.

Получены новые данные о снижении вероятности развития пищевой аллергии у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию, на фоне хронической описторхозной инвазии.

Впервые установлено, что использование среднего диаметра папулы  $\geq 1$  мм в качестве позитивного результата при выполнении кожных прик-тестов с пищевыми аллергенами характеризуется наиболее высокой согласованностью с результатами измерения специфического IgE.

Впервые сформулированы критерии диагноза пищевой аллергии у детей, проживающих в регионах с высокой распространенностью описторхоза: наличие клинических симптомов, возникающих в течение двух часов после употребления продукта питания, положительные результаты кожного аллерготестирования - средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм и/или повышение уровня специфического IgE сыворотки крови  $\geq 0,35$  кЕдА/л.

Важное теоретическое значение имеют экспериментальные данные об участии антигенов *Opisthorchis felinus* в механизмах формирования пищевой аллергии у детей эндемичных по описторхозу очагов. Установлено, что модификация иммунного ответа при пищевой аллергии, протекающей на фоне хронического описторхоза, достигается посредством цитокин-опосредованной супрессии гельминтом Th2-зависимых механизмов аллергического воспаления.

В связи с тем, что проект выполняется в рамках международного эпидемиологического исследования и не имеет аналогов на территории Российской Федерации, полученные данные о распространенности, структуре сенсibilизации, клинических проявлениях и факторах риска пищевой аллергии могут быть сопоставлены с результатами аналогичных зарубежных исследований и высоко оценены мировым научным сообществом.

**Практическая значимость.** Данные о согласованности положительных результатов кожных прик-тестов с пищевыми аллергенами и содержания специфического IgE сыворотки валидны и могут быть рекомендованы к использованию в широкой клинической практике, т.к. они получены в рамках многоцентрового международного эпидемиологического исследования по гранту VI рамочной программы Евросоюза («The Prevalence, Cost and Basis of Food Allergy Across Europe»; контракт № FP6-2006-ТТС-TU-5 Proposal 045879).

Полученные данные, касающиеся структуры пищевой сенсibilизации, свидетельствуют о необходимости использования при кожном аллерготестировании диагностических экстрактов аллергенов фундука, арахиса и яблока на территории Российской Федерации.

Предложены критерии диагностики пищевой аллергии у детей.

Установленные механизмы участия антигенов *Opisthorchis felinus* в регуляции иммунного ответа при пищевой аллергии послужат необходимой теоретической платформой при разработке новых фармакологических подходов к профилактике аллергии. Внедрение технологий первичной профилактики аллергических болезней, отличающихся высокой эффективностью, безопасностью и универсальностью, будет способствовать значительному снижению прямых и косвенных затрат ресурсов здравоохранения, повысит качество оказания профилактической помощи населению как в России, так и в мировом масштабе.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Распространенность симптомов, ассоциированных с непереносимостью продуктов питания у детей в возрасте 7-10 лет, составляет 38,9%. Распространенность пищевой аллергии значительно ниже и составляет 1,2%.

Критериями диагноза пищевой аллергии являются клинические симптомы, возникающие в течение двух часов после употребления продукта питания, среди которых наиболее часто регистрируются уртикарные и эритематозные высыпания, а также оральная аллергическая реакция. К дополнительным критериям диагностики пищевой аллергии относятся положительные результаты кожного аллерготестирования - средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм и/или повышение уровня специфического IgE сыворотки крови  $\geq 0,35$  кЕдА/л.

2. Распространенность пищевой аллергии у детей в эндемичном по описторхозной инвазии очаге ассоциирована с распространенностью хронического описторхоза. Наиболее низкие показатели регистрируются в сельских районах с высоким уровнем описторхоза, наиболее высокие – в г. Томске и сельских районах с низким уровнем описторхоза. Структура пищевой сенсibilизации различается в зависимости от региона проживания, что связано с диетическими традициями населения. Ведущими пищевыми аллергенами у детей Томской области являются рыба, яблоко, яйцо, морковь, фундук, арахис. Сенсibilизация к аэроаллергенам у детей, в первую очередь к пыльце березы, способствует развитию перекрестной реактивности к пищевым белкам растительного происхождения и играет ключевое значение в формировании структуры пищевой сенсibilизации.
3. Среди факторов риска пищевой аллергии у детей важное значение имеют наличие пищевой аллергии и другой аллергической патологии у отца, искусственное вскармливание, проживание в городских условиях в течение первых двух лет жизни ребенка. Снижение риска развития болезни ассоциировано с экспозицией к аллергенам кошки в первые два года жизни ребенка и наличием старших детей в семье.
4. Наличие хронического описторхоза сопряжено со снижением вероятности развития пищевой аллергии у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию. Антигены *Opisthorchis felinus* обладают высокой иммуногенностью, являясь индукторами синтеза супрессорных цитокинов. Модификация иммунного ответа при пищевой аллергии, протекающей на фоне хронического описторхоза, достигается посредством супрессии Th2-зависимых механизмов аллергического воспаления.

**Апробация работы.** Материалы исследования доложены и обсуждены на международных Конгрессах «The Prevalence, Cost and Basis of Food Allergy Across Europe» (Великобритания, г. Лондон, 2008 г.; Германия, г. Берлин, 2008 г.; Австрия, г. Вена, 2009 г.; Италия, г. Флоренция, 2009 г.), XIII Конгрессе педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии», (г. Томск, 2009 г.), VII международной конференции «International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure / Systems Biology» (г. Новосибирск, 2010 г.), Конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (г. Томск, 2009 г.), на проблемной комиссии по педиатрии, на заседаниях кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СибГМУ (г. Томск, 2008 - 2010 г.г.).

**Внедрение полученных результатов.** Полученные результаты используются в работе Областного детского центра клинической иммунологии и аллергологии (ОГУЗ «Областная детская больница», г. Томск), отделении клинической иммунологии и аллергологии МЛПУ №4 г. Новокузнецка. Материалы проведенных исследований используются в учебном процессе на кафедре факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета для студентов педиатрического, лечебного, медико-биологического факультетов и на кафедре общей врачебной практики ФПК и ППС ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, кафедре фармакологии, клинической фармакологии с курсом аллергологии и клинической иммунологии ГОУ ВПО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия».

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 22 печатных работы, включая 12 статей в журналах, реферируемых ВАК РФ, 2 из которых опубликованы в зарубежных журналах, цитируемых в базе данных Web of Science. Издано 1 учебное пособие, рекомендованное Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности 040200 - педиатрия.

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 294 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 рисунками и 51 таблицей. Список источников цитируемой литературы включает 300 работ, из которых 51 отечественная и 249 зарубежных публикаций.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **1. Одномоментное эпидемиологическое исследование распространенности пищевой аллергии у детей**

Исследование спланировано и выполнено в рамках проекта «Исследование распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» («The Prevalence, Cost and Basis of Food Allergy Across Europe») по гранту VI рамочной программы Евросоюза (контракт № FP6-2006-ТТС-TU-5 Proposal 045879 «EuroPrevall»; главный исследователь в г. Томске член-корр. РАМН, д.м.н., профессор Огородова Л.М.). Исследование осуществлялось на базах ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, Областного детского центра клинической иммунологии и аллергологии (ОГУЗ «Областная детская больница», г. Томск), общеобразовательных средних школ г. Томска и Томской области, а также муниципальных учреждений здравоохранения районов Томской области. Все этапы мониторировались координационным центром – отделом эпидемиологических исследований Имперского медицинского колледжа науки, технологии и медицины, (г. Лондон, Великобритания), а также Институтом исследований питания (г. Лондон, Великобритания).

Схема исследования включала скрининговый и клинический этапы. Скрининговый этап спланирован в дизайне одномоментного исследования в трех выборках: городской (г. Томск) – сформированной рандомизированным образом, и двух сельских выборках, сформированных сплошным методом – сельская 1 (в районах с высокой распространенностью описторхоза) и сельская 2 (в районах с низкой распространенностью описторхоза; рис. 1). Распределение сельских районов Томской области на регионы в зависимости от распространенности описторхозной инвазии осуществлено в соответствии с данными официальной медицинской статистики и результатами предшествующих пилотных исследований [Балашева И.И., Миронова З.Г., 1992; Огородова Л.М., 2006]. В исследовании приняли участие дети в возрасте 7-10 лет (n=12 813); данные возрастные критерии приняты координатором исследования при формировании единого протокола для всех стран-участников проекта в целях достижения сопоставимости результатов. Одномоментное скрининговое исследование распространенности ПА у детей проведено с использованием специально разработанных совместно с координационным центром вопросников, прошедших языковую адаптацию и валидизацию.

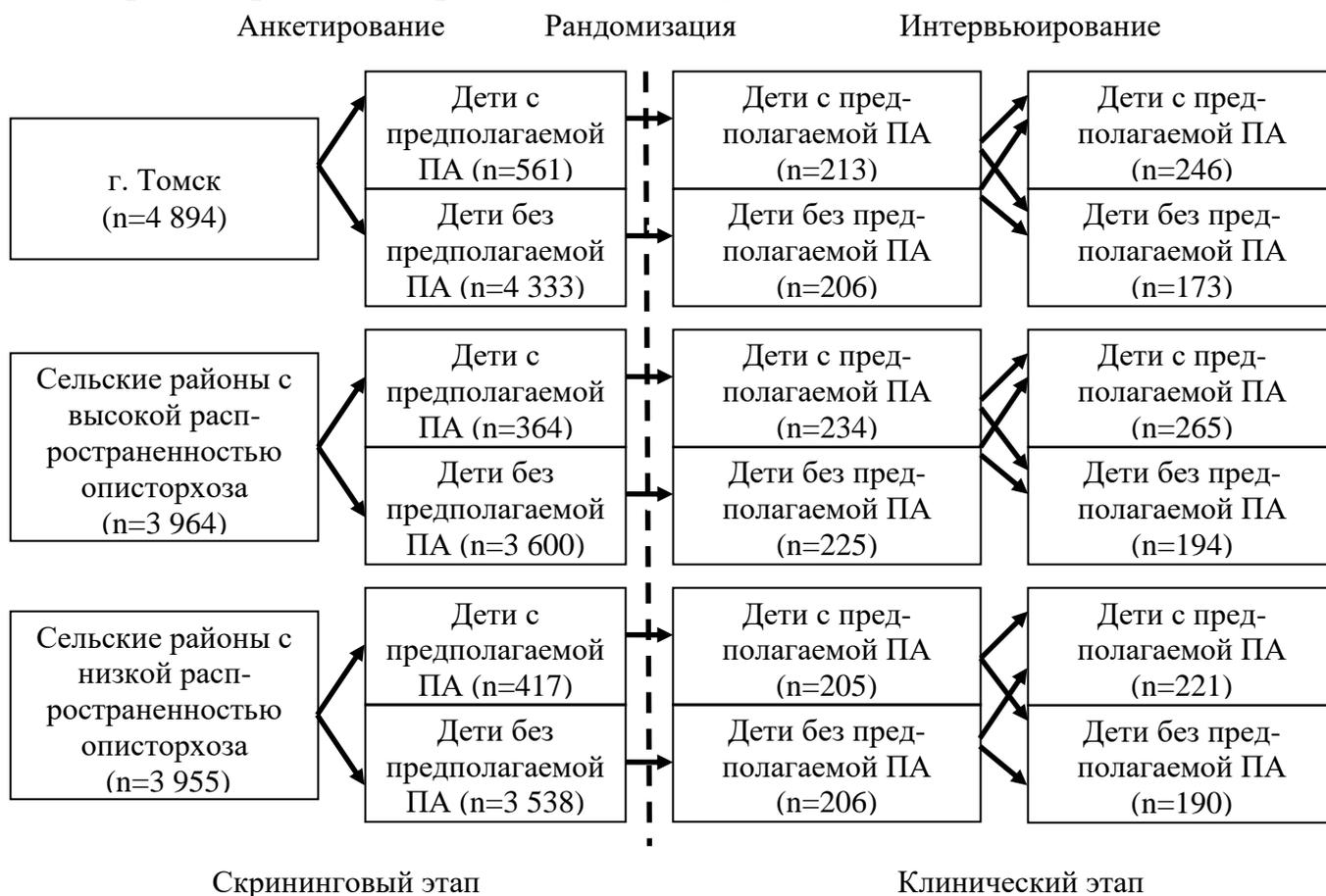


Рис. 1. Схема исследования

### Используемая терминология

В целях стандартизации результатов различных этапов эпидемиологического исследования использовали следующие термины:

- *нежелательные реакции к пищевым продуктам* - наличие в скрининговом вопроснике включенного респондента ответа «ДА» на вопрос 1 («Были ли у Вашего ребенка когда-либо заболевания или проблемы, вызванные употреблением продукта или продуктов питания?») в сочетании с указанием любого продукта питания;
- *предполагаемая пищевая аллергия* - наличие в скрининговом вопроснике включенного респондента ответа «ДА» на вопрос 1 («Были ли у Вашего ребенка когда-либо заболевания или проблемы, вызванные употреблением продукта или продуктов питания?») в сочетании с указанием какого-либо из 24 «приоритетных» 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);
- *истинная пищевая аллергия* - наличие симптомов, развивающихся в течение 2-х часов после употребления одного из 24 «приоритетных» продуктов питания в сочетании с подтвержденной сенсibilизацией к данному продукту. При разработке точных диагностических критериев *истинной пищевой аллергии* использовали следующие альтернативные сочетания признаков:
  - наличие симптомов ПА, развивающихся в течение 2-х часов после употребления одного из 24 «приоритетных» продуктов питания и наличие сенсibilизации к данному продукту питания, подтвержденной позитивными результатами КПТ (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм) и / или содержанием специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л в сыворотке крови;
  - наличие симптомов ПА, развивающихся в течение 2-х часов после употребления одного из 24 «приоритетных» продуктов питания и наличие сенсibilизации к данному продукту питания, подтвержденной позитивными результатами КПТ (средний диаметр папулы  $\geq 3$  мм) и / или содержанием специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л в сыворотке крови.

Скрининговый этап исследования позволил оценить распространенность *нежелательных реакций к пищевым продуктам*, а также распространенность *предполагаемой ПА* в изучаемых выборках. По результатам скринингового этапа с использованием рандомизации в каждом из регионов (г. Томск, сельские районы с высокой распространенностью описторхоза, сельские районы с низкой распространенностью инвазии) сформированы выборки детей с *предполагаемой ПА*, а также группы детей, не имеющих *предполагаемой ПА*, для участия в клиническом одномоментном исследовании «случай-контроль» (n=1 289).

В ходе клинического этапа исследования проведено интервьюирование родителей / опекунов, клиническое обследование пациентов и оценка уровня сенсibilизации, включая исследование уровня специфического IgE и кожное аллeрготестирование с аллeргенами пищевой, растительной и бытовой групп. В

результате интервьюирования часть детей, не имевших симптомов *предполагаемой ПА*, перераспределена в группы детей с симптомами ПА, поскольку родители/опекуны имели возможность отвечать более внимательно на соответствующие вопросы врача-исследователя во время визита в исследовательский центр и дать более точную информацию, чем при заполнении скринингового вопросника. Данное распределение использовано нами при последующем анализе результатов исследования (рис.1).

Приоритетной задачей клинического этапа являлась оценка распространенности в исследуемой популяции *истинной ПА*. Данный показатель рассчитывали с соблюдением следующего алгоритма:

1. Определяли значение N как численность выборки скринингового этапа;
2. Устанавливали общее число детей, имевших нежелательные реакции, ассоциированные с употреблением «*приоритетных*» *продуктов питания* (А), а также остальных участников исследования – как не имевших *предполагаемой ПА* (В), в исследуемой в ходе скринингового этапа выборке;
3. Устанавливали число пациентов с *истинной ПА* (в процентах) в сформированной рандомизированном образом группе детей, страдающих *предполагаемой ПА* (С), и в группе детей, не имеющих *предполагаемой ПА* (D) (клинический этап);
4. Рассчитывали распространенность *истинной ПА* по формуле:

$$\frac{A \times C + B \times D}{N}$$

### **Методы, использованные при выполнении исследования**

1. Эпидемиологические:
  - планирование исследования: выбор дизайна и калькуляция численности выборок;
  - выбор регионов для проведения исследования;
  - разработка и утверждение протокола исследования;
  - информирование населения;
  - адаптация и пилотная апробация вопросников;
  - использование скрининговых вопросников (анкетирование) и клинических вопросников (интервьюирование).
2. Клинические:
  - сбор медицинского анамнеза, жалоб; физикальное обследование, оценка жизненно важных функций и заполнение индивидуальной регистрационной карты врачом-исследователем;
  - антропометрия;
  - взятие венозной крови для последующего иммунологического исследования.
3. Аллергологические:
  - выполнение КИТ с аллергенами пищевой, бытовой, пыльцевой и эпидермальной групп (ALK-Abelló, Испания).
4. Паразитологические:

- копроовоскопия.

#### 5. Иммунологические:

- оценка уровня специфического IgE сыворотки крови к пищевым, пыльцевым и бытовым аллергенам методом ImmunoCAP (иммунофлюоресцентный анализ содержания IgE; Phadia, Швеция); исследование проводили в лаборатории факультета экспериментальной иммунологии Академического Медицинского Центра Университета Амстердама (Нидерланды);
- оценка уровня общего IgE сыворотки крови методом ImmunoCAP (Phadia, Швеция).

#### 6. Молекулярно-генетические:

- молекулярно-генетическое исследование на наличие яиц гельминта *Opisthorchis felinus* в стуле.

### **2. Одномоментное экспериментальное исследование «случай-контроль»**

С целью установления роли антигенов *Opisthorchis felinus* в механизмах реализации иммунного ответа при ПА проведено одномоментное исследование «случай-контроль» с использованием приготовленных культур мононуклеаров периферической крови, полученных от больных хроническим описторхозом, ПА, сочетанием обоих заболеваний, а также здоровых лиц, проживающих в эндемичном по описторхозу регионе. В целях создания модели иммунного ответа при типичной аллергической патологии к участию в исследовании приглашены больные ПА, страдающие бронхиальной астмой (БА). Таким образом, в исследовании приняли участие дети в возрасте от 7 до 15 лет ( $n=60$ , средний возраст  $9,12 \pm 1,93$ ), проживающие в районах Томской области с высокой распространенностью описторхоза:

- больные ПА ( $n=15$ , средний возраст  $8,94 \pm 1,45$ );
- больные сочетанной патологией: ПА и хронический описторхоз ( $n=15$ , средний возраст  $9,28 \pm 1,67$ );
- больные хроническим описторхозом ( $n=15$ , средний возраст  $8,55 \pm 1,14$ );
- контрольная группа ( $n=15$ , средний возраст  $9,36 \pm 1,77$ ).

Основные процедуры экспериментального исследования проводили на базе Областного детского центра клинической иммунологии и аллергологии (Областное государственное учреждение здравоохранения «Областная детская больница», г. Томск) и Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава.

Изучение влияния *Opisthorchis felinus* на иммунный ответ при ПА проводили *in vitro* с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ). Функциональную активность мононуклеаров периферической крови оценивали при спонтанной реакции, а также на фоне стимуляции фитогемагглютинином (ФГА) и антигеном *Opisthorchis felinus*. Клеточные культуры инкубировали при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 72 ч при 5%  $\text{CO}_2$ . После инкубации собирали супернатант клеточных культур для определения

цитокинов IL-4, IL-5, IL-10 и TGF- $\beta$  с помощью твердофазного иммуноферментного анализа ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay).

### Статистический анализ

Статистическая обработка данных проведена по алгоритму, разработанному координационным центром и обсужденному на рабочем совещании INCO-партнеров в рамках X Конгресса EuroPrevall в декабре 2009 г. (г. Флоренция, Италия). Для составления базы данных использовали программу «Microsoft Excel 2002» (Microsoft Corporation). Статистические процедуры выполняли с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA for Windows 6.0» и «SPSS Base 14.0». Данные анализировали с помощью расчета описательных статистик, использовали непараметрические критерии и корреляционный анализ. Влияние факторов риска анализировали посредством множественной логистической регрессии, для расчета вероятностей применяли метод отношения шансов. Для сравнения частот признаков в анализируемых группах использовали двусторонний точный критерий Фишера, для сравнения средних уровней количественных показателей - тест Крускала-Уоллиса, в том числе его специальная модификация для парных сравнений. Для оценки различия средних величин в попарно несвязанных выборках использовали U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде  $X \pm SE$ , где X – среднее арифметическое, SE – ошибка среднего. Статистически значимыми различиями считали таковые при  $p < 0,05$ .

В ходе исследования проводили расчет статистического коэффициента каппа (КК) – меры согласованности результатов двух независимых методов исследования. Использовали формулу, в которой числитель – различие между наблюдаемой долей согласованных результатов и ожидаемой долей согласованных случайно, а знаменатель – максимально возможная величина такого различия:

$$КК = (p_o - p_e) / (1 - p_e)$$

$p_o$  – сумма наблюдаемых долей

$p_e$  – сумма ожидаемых долей

Считали, что значение КК в диапазоне 0,75 - 1,0 свидетельствовало о высокой согласованности результатов, значения в диапазоне 0,75 - 0,40 – об умеренной согласованности, менее 0,40 – о низкой согласованности результатов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Предполагаемая пищевая аллергия (скрининговый этап)

Согласно данным скринингового этапа распространенность *нежелательных реакций к пищевым продуктам* по результатам анализа «Скрининговых вопросников ПА у детей» у школьников была достаточно

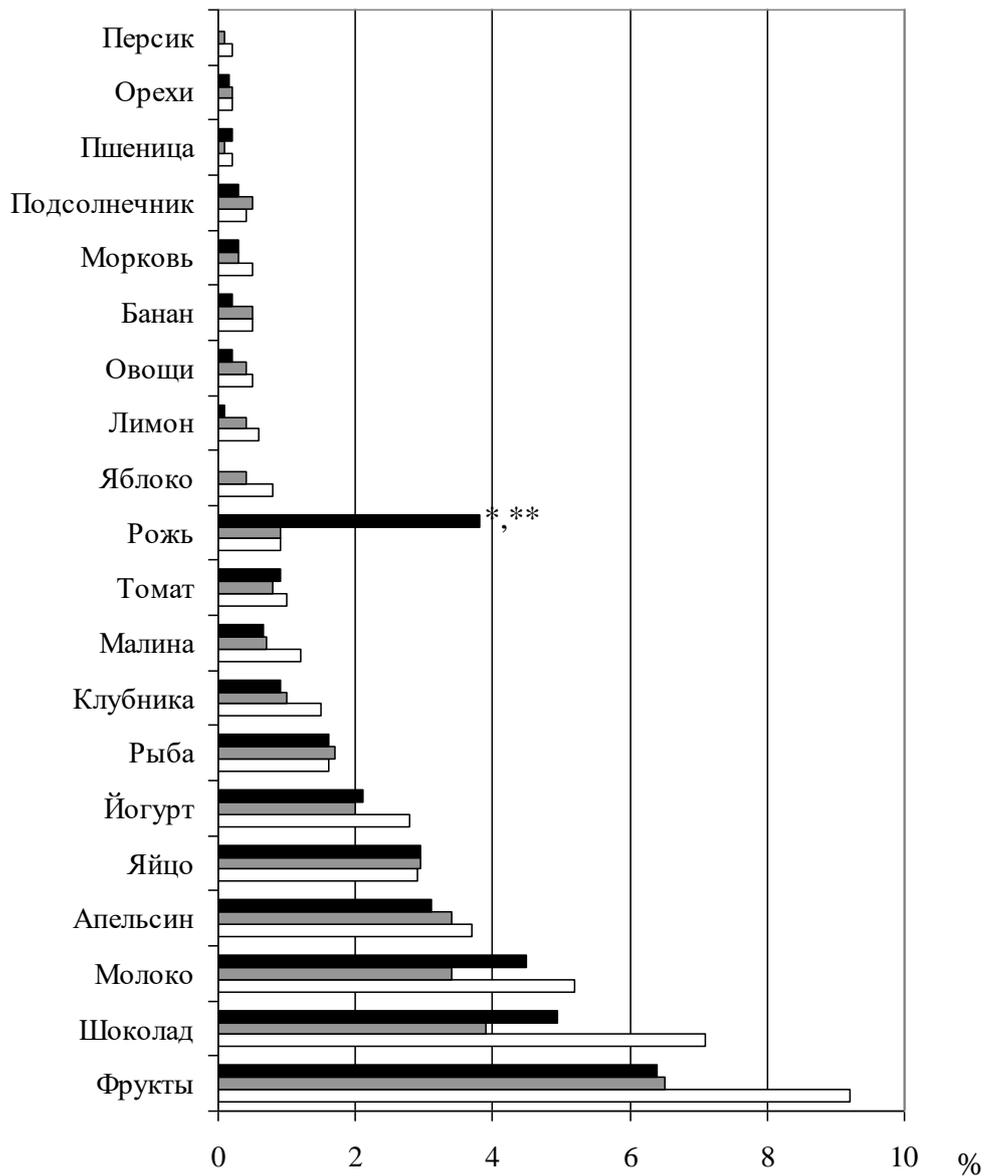
высокой в сравнении с данными европейских исследований и составила в среднем 38,9%. Очевидно, полученные результаты отражают лишь совокупность различных состояний, включая неиммунные псевдоаллергические реакции, ассоциированные с нарушением толерантности к пище, а не распространенность истинной ПА. Об этом свидетельствуют указания в скрининговых вопросниках 25,14% респондентов в качестве триггеров нежелательных реакций таких продуктов питания, как шоколад, газированная вода, чипсы, кетчуп, майонез, жевательная резинка, колбасные изделия, пищевые красители и др. Немаловажное значение имеет дефицит современной корректной информации о причиннозначимых аллергенах и распространенности ПА в России, что вызывает неверное представление населения о болезни и гипердиагностику данных состояний специалистами.

Распространенность *нежелательных реакций к пищевым продуктам* статистически значимо выше у школьников г. Томска, чем в сельских выборках с высоким и низким уровнем описторхозной инвазии (42,73%, 36,18% и 36,86% соответственно,  $p < 0,05$ ).

Распространенность *предполагаемой ПА* (симптомы нежелательных реакций, вызванных употреблением «приоритетных» продуктов питания,) в сельских районах с высоким уровнем описторхоза значительно ниже аналогичных показателей в г. Томске и сельских районах с низким уровнем инвазии (9,18%, 11,46%, и 10,54% соответственно,  $p < 0,05$ ). Данный факт свидетельствует о вкладе описторхозной инвазии в формирование распространенности симптомов ПА в регионе.

Ведущими причиннозначимыми аллергенами по мнению респондентов скринингового этапа являются такие продукты питания, как фрукты, шоколад, молоко, апельсин, яйцо (рис. 2). Следует отметить, что по данным эпидемиологических исследований, распространенность ПА к коровьему молоку у детей школьного возраста регистрируется редко, а большинство нежелательных реакций, возникающих при употреблении шоколада и апельсина – неиммунные. Такие высокоаллергенные продукты, как яблоки, персики, орехи, были указаны в вопросниках менее, чем у 1% опрошенных. В то же время 7,48% респондентов ассоциировали возникновение нежелательных реакций с употреблением фруктов. Отсутствие спецификации продуктов в данных вопросниках позволяет предполагать больший удельный вес пациентов с аллергическими реакциями к яблокам, персикам, бананам, вишне в анамнезе. В качестве ведущих локальных высокоаллергенных продуктов региона Западной Сибири регистрировались ягоды (клубника, малина), овощи (морковь, томат), а также рожь и подсолнечник.

Согласно результатам скринингового анкетирования, ведущими симптомами *предполагаемой ПА* являются кожные (66%) и гастроинтестинальные проявления (37,5%). Распространенность симптомов аллергического ринита (АР), ассоциированного с пищевой непереносимостью, составляет 18,9%, орального аллергического синдрома – 12,6%, одышки – 10,5%, аллергического конъюнктивита – 9,6%.



Примечание:

- - Городская выборка
- (gray) - Сельская выборка 1
- (black) - Сельская выборка 2

\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с городской выборкой (двусторонний точный критерий Фишера)

\*\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с сельской выборкой 1 (двусторонний точный критерий Фишера)

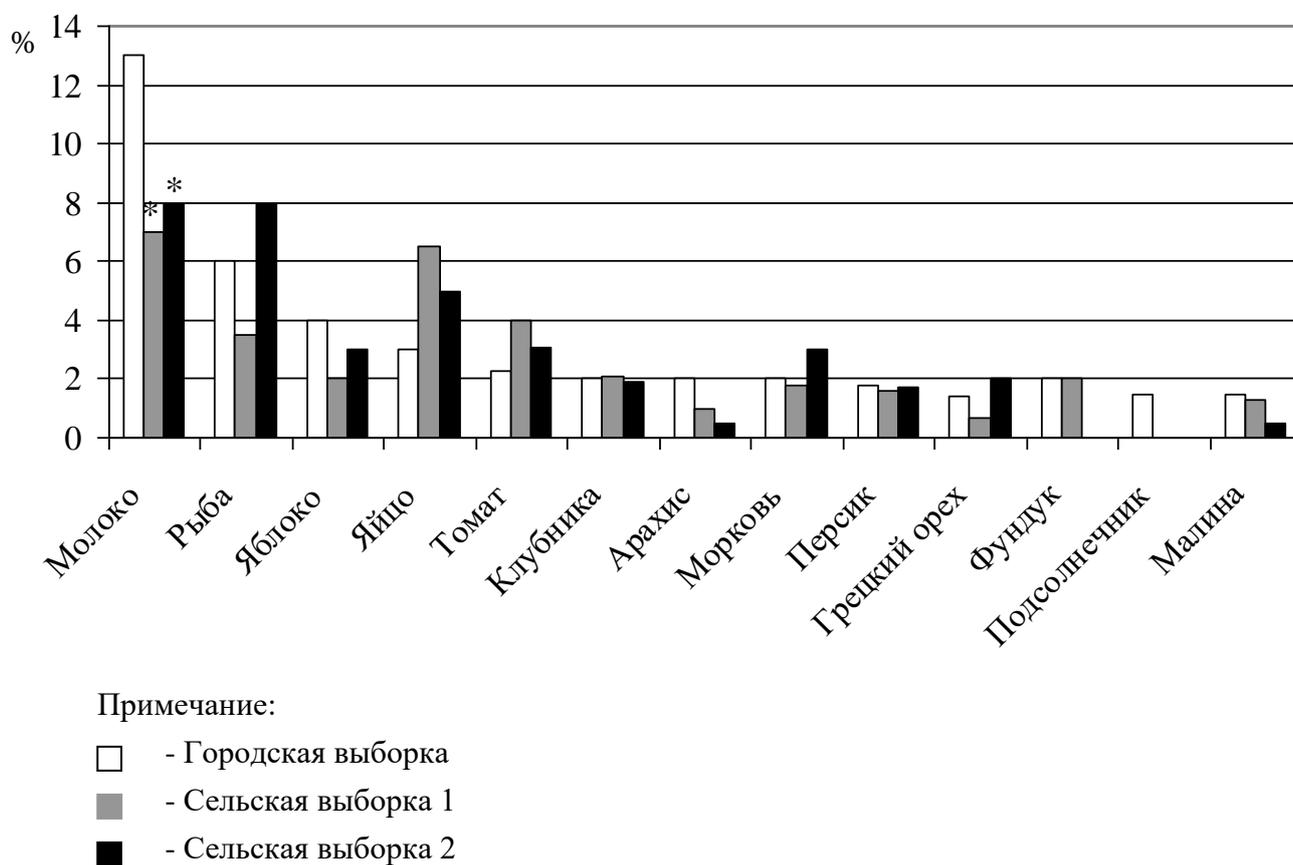
Рис. 2. Ведущие пищевые триггеры нежелательных реакций (по данным анкетирования с использованием скринингового вопросника)

Распространенность врачебно-верифицированного диагноза ПА, установленного до включения в настоящее исследование, составляет в г. Томске 18,33%, что статистически значимо выше, чем в сельских районах с высокой распространенностью описторхоза и в сельских районах с низкой распространенностью описторхоза (13,22% и 15,75% соответственно,  $p < 0,05$ ).

### Предполагаемая пищевая аллергия (клинический этап)

В ходе клинического этапа исследования проведено интервьюирование родителей / опекунов детей исследуемых выборок. Приоритетное значение имело исследование распространенности симптомов *предполагаемой ПА*, развивающихся в течение 2-х часов после употребления причиннозначимого пищевого аллергена, т.к. согласно данным различных исследований, клинические проявления истинной ПА чаще возникают в рамках данного временного периода [Rona R.J., 2007; Sampson H.A., 2004].

Как показывают результаты, у трети больных *предполагаемой ПА* симптомы ПА возникали не позднее 2-х часов после употребления продукта питания (у 32,11% - в городской выборке, у 31,70% - в сельской выборке 1, у 34,84% - в сельской выборке 2, соответственно). Среди ведущих пищевых триггеров при интервьюировании родителей / опекунов городских школьников зарегистрированы аллергены молока, рыбы и яблока; в сельской выборке 1 – молоко, яйцо, томат; в сельской выборке 2 – рыба, молоко и яйцо (рис. 3).



\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с городской выборкой (двусторонний точный критерий Фишера)

Рис. 3. Продукты питания - триггеры симптомов *предполагаемой пищевой аллергии*, развивающихся в течение 2-х часов после употребления (по данным интервьюирования с использованием клинического вопросника)

Важной частью клинического этапа исследования являлось изучение распространенности и структуры сенсibilизации к пищевым аллергенам у

школьников г. Томска и Томской области. С этой целью представителям исследуемых выборок проводили кожные прик-тесты с использованием панели стандартизованных экстрактов аллергенов (ALK-Abelló, Испания). Для оценки распространенности сенсibilизации использовали различные критерии диагностики: положительной реакцией на аллерген считали таковую при среднем диаметре папулы  $\geq 3$  мм, а также  $\geq 1$  мм и  $\geq 5$  мм.

В выборке школьников г. Томска с *предполагаемой ПА*, распространенность сенсibilизации к пищевым аллергенам (средний диаметр папулы  $\geq 3$  мм,  $\geq 1$  мм) была статистически значимо выше, чем в выборке детей, проживающих в сельских районах с высокой распространенностью описторхоза (табл. 1). Количество больных *предполагаемой ПА*, имеющих средний диаметр папулы  $\geq 5$  мм, также преобладало в городской и сельской 2 выборках в сравнении с сельской выборкой 1, однако, статистической значимости достигнуто не было. Достоверных различий в распространенности сенсibilизации в выборках детей, не имеющих *предполагаемой ПА*, обнаружено не было.

Проанализирована распространенность сенсibilизации к различным пищевым аллергенам у обследованных пациентов. В выборке городских больных *предполагаемой ПА*, превалировала сенсibilизация к аллергенам моркови, арахиса, фундука, северного яблока (рис. 4).

Таблица 1

Распространенность сенсibilизации к пищевым аллергенам  
по результатам кожных прик-тестов

Группы	Результаты кожных прик-тестов	Городская выборка	Сельская выборка 1	Сельская выборка 2
Дети с <i>предполагаемой пищевой аллергией</i>	Средний диаметр папулы $\geq 1$ мм	54 (21,95%)	31 (11,70%)*	36 (16,29%)
	Средний диаметр папулы $\geq 3$ мм	31 (12,60%)	15 (5,66%)*	20 (9,05%)
	Средний диаметр папулы $\geq 5$ мм	11 (4,47%)	5 (1,89%)	9 (4,07%)
Дети без <i>предполагаемой пищевой аллергии</i>	Средний диаметр папулы $\geq 1$ мм	6 (3,47%)	7 (3,61%)	8 (4,21%)
	Средний диаметр папулы $\geq 3$ мм	5 (2,89%)	4 (2,06%)	7 (3,68%)
	Средний диаметр папулы $\geq 5$ мм	2 (1,16%)	1 (0,52%)	2 (1,05%)

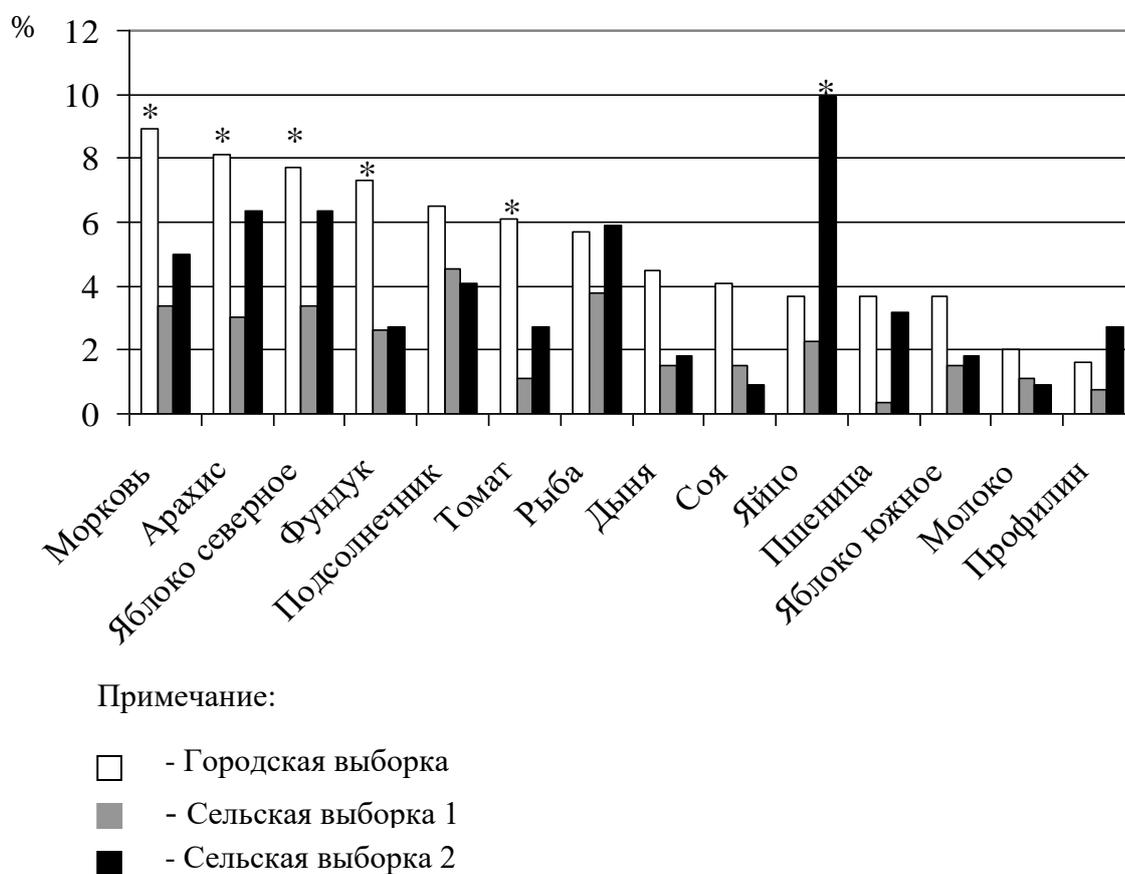
Примечание:

\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с городской выборкой (двусторонний точный критерий Фишера)

При аллергологическом обследовании больных, проживающих в сельских районах с высоким уровнем описторхоза, наиболее часто выявлялась сенсibilизация к подсолнечнику, рыбе, яблоку, моркови, реже – к орехам. Для школьников сельских районов с низкой распространенностью описторхоза

установлен высокий уровень сенсибилизации к аллергену куриного яйца, арахиса, яблока, рыбы.

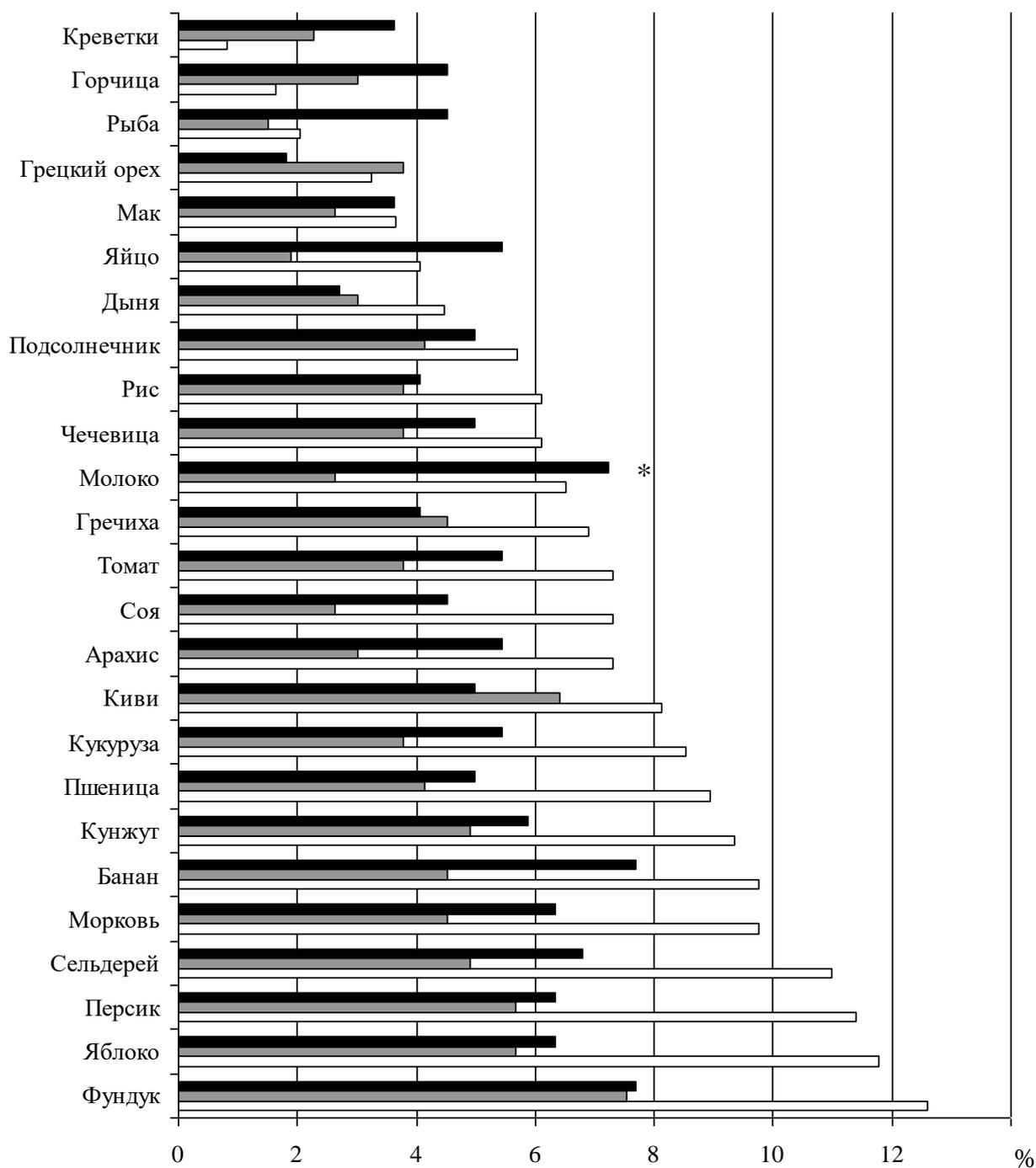
Также проведен анализ результатов оценки уровня специфического IgE к «приоритетным» пищевым аллергенам. При расчете показателей распространенности специфической сенсибилизации в исследуемых популяциях учитывали число обследованных детей с содержанием специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л как минимум к одному аллергену пищевой группы. Установлено, что в районах с высоким уровнем описторхоза распространенность пищевой сенсибилизации статистически значимо ниже, чем в г. Томске и селах с низкой частотой инвазии (10,61%, 15,78% и 15,65% соответственно,  $p < 0,05$  при парных сравнениях), что полностью соответствует рассмотренным выше результатам аллергологического обследования.



\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с сельской выборкой 1 (двусторонний точный критерий Фишера)

Рис. 4. Сенсибилизация к пищевым аллергенам в выборках больных предполагаемой пищевой аллергией по результатам кожных прик-тестов (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм)

В выборке городских больных предполагаемой ПА преобладала сенсибилизация к продуктам, отражающим наличие перекрестной реактивности к аллергену пыльцы березы – лесному ореху, яблоку, персику, сельдерее, моркови (рис. 5).



Примечание:

- - Городская выборка
- (gray) - Сельская выборка 1
- (black) - Сельская выборка 2

\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с сенсibilизацией к данному аллергену в сельской выборке 1 (двусторонний точный критерий Фишера)

Рис. 5. Сенсibilизация к пищевым аллергенам в группах больных предполагаемой пищевой аллергией по результатам оценки уровня специфического  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л

Достаточно часто в данной выборке выявлялась сенсibilизация к группе аллергенов семян и злаков (кунжут, пшеница, кукуруза, гречиха, реже – подсолнечник), а также киви и банану, сенсibilизация к которым нередко носит перекрестный характер. Структура пищевой сенсibilизации в выборке пациентов сельских районов с высоким уровнем описторхоза была схожей, а ее распространенность значительно ниже, чем в г. Томске.

В сельской выборке 2 наряду с высоким уровнем сенсibilизации к растительным аллергенам (лесной орех, яблоко, персик, сельдерей, морковь, банан), нередко регистрировалось повышение уровня специфического IgE к термостабильным белкам животного происхождения (коровьего молока, куриного яйца, рыбы).

### **Истинная пищевая аллергия**

В ходе анализа распространенности *истинной ПА* на основании критериев, включающих симптомы ПА в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания, наличие любых позитивных результатов КППТ (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм) и/или уровня специфического  $\text{IgE} \geq 0,35$  кЕдА/л установлено, что данный показатель в исследуемой популяции детей (Томская область) составил 1,19%. При этом распространенность *истинной ПА* сопряжена с распространенностью описторхоза в исследуемой популяции. Так, число больных *истинной ПА* в сельских районах с высоким уровнем описторхоза статистически значимо ниже аналогичного показателя в детской городской популяции в 1,6 раза и в 1,8 раза ниже, чем в сельских районах с низкой частотой инвазии (табл. 2).

При использовании альтернативных критериев наличия сенсibilизации (средний диаметр папулы  $\geq 3$  мм, и/или специфический  $\text{IgE} \geq 0,35$  кЕдА/л) показатели распространенности *истинной ПА* в сельских районах с высоким уровнем описторхоза также были наименьшими, однако, статистической значимости при сравнении с показателями в других регионах достигнуто не было. Данное обстоятельство вызывает определенный интерес и требует анализа роли факторов, влияющих на интенсивность пищевой сенсibilизации у детей, проживающих в г. Томске и Томской области.

Проведен анализ распространенности *истинной ПА* к отдельным «приоритетным» продуктам питания в исследуемой популяции детей Томской области (табл. 3). Ведущими пищевыми аллергенами у детей, проживающих в Томской области, являются рыба, яблоко, яйцо, морковь, арахис, фундук, что подтверждено при использовании различных критериев диагноза ПА. При этом ведущими пищевыми аллергенами в г. Томске являются аллергены яблока, рыбы и арахиса (табл. 4). В сельских районах с низким уровнем описторхоза наиболее часто регистрировали аллергию на белок рыбы и куриного яйца, реже моркови и коровьего молока. Фундук являлся важным продуктом питания, вызывающим ПА у жителей сельских районов с высоким уровнем описторхоза.

Таблица 2

Распространенность *истинной пищевой аллергии* в исследуемых популяциях

Критерии <i>истинной пищевой аллергии</i>	Симптомы пищевой аллергии в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания; средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 1$ мм, и/или специфический $IgE \geq 0,35$ кЕдА/л, %	Симптомы пищевой аллергии в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания; средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 3$ мм, и/или специфический $IgE \geq 0,35$ кЕдА/л, %
Регионы		
г. Томск	1,354	1,184
Сельские районы с высокой распространенностью описторхоза	0,835	0,796
Сельские районы с низкой распространенностью описторхоза	1,514	0,926
p*	0,022	0,059
p**	0,005	0,332

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости при сравнении показателей в популяциях г. Томска и сельских районов с высокой распространенностью описторхоза (двусторонний точный критерий Фишера)

\*\* - достигнутый уровень значимости при сравнении показателей в популяциях сельских районов с высокой распространенностью описторхоза и сельских районов с низкой распространенностью описторхоза (двусторонний точный критерий Фишера)

Таблица 3

Распространенность *истинной пищевой аллергии* к различным пищевым аллергенам

Критерии <i>истинной пищевой аллергии</i>	Симптомы пищевой аллергии в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания; средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 1$ мм, и/или специфический $IgE \geq 0,35$ кЕдА/л, %	Симптомы пищевой аллергии в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания; средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 3$ мм, и/или специфический $IgE \geq 0,35$ кЕдА/л, %
Пищевые аллергены		
Рыба	0,39	0,32
Яблоко	0,29	0,26
Яйцо	0,19	0,11
Морковь	0,16	0,14
Фундук	0,11	0,09
Арахис	0,11	0,08

Показатели распространенности *истинной пищевой аллергии* к «приоритетным» продуктам питания в исследуемых популяциях #

г. Томск		Сельские районы с высокой распространенностью описторхоза		Сельские районы с низкой распространенностью описторхоза	
Пищевые аллергены	%	Пищевые аллергены	%	Пищевые аллергены	%
Яблоко	0,54	Фундук	0,44*	Рыба	0,62**
Рыба	0,43	Яйцо	0,44*	Пшеница	0,49
Арахис	0,27	Дыня	0,40*	Яйцо	0,31
Персик	0,16	Яблоко	0,20*	Молоко	0,15
Морковь	0,16	Рыба	0,16*	Морковь	0,15
Фундук	0,16	Морковь	0,16	Яблоко	0,15*
Яйцо	0,11	Томат	0,12	Персик	0,05
Банан	0,11	Персик	0,04	Арахис	0,05*
Подсолнечник	0,11	Арахис	0,04*	Грецкий орех	0,05
Томат	0,05	Молоко	0,00	Дыня	0,05**
Молоко	0,05	Банан	0,00	Томат	0,00
Дыня	0,05	Грецкий орех	0,00	Фундук	0,00
Грецкий орех	0,05	Пшеница	0,00	Подсолнечник	0,00
Пшеница	0,00	Подсолнечник	0,00	Банан	0,00

Примечание:

# - критерии *истинной пищевой аллергии*: симптомы в течение 2-х часов к «приоритетным» продуктам питания, средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм при каждом прик-тестировании, и/или специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л

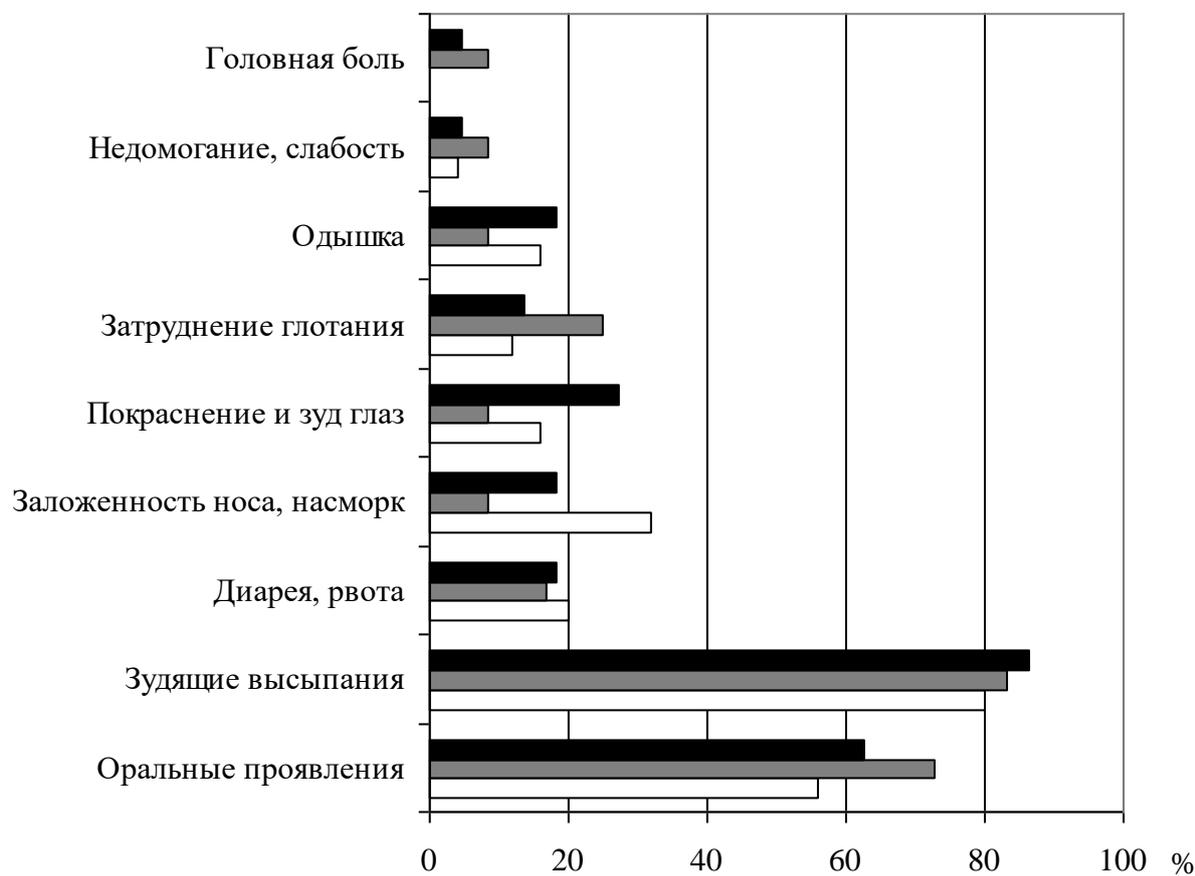
\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с сенсibilизацией к данному аллергену в г. Томске (двусторонний точный критерий Фишера)

\*\* -  $p < 0,05$  - в сравнении с сенсibilизацией к данному аллергену в сельских районах с высоким уровнем описторхоза (двусторонний точный критерий Фишера)

При анализе распределения больных *истинной ПА* по половому признаку оказалось, что 54,24% составили мальчики, 45,76% - девочки. Результаты анализа распространенности клинических симптомов у больных *истинной ПА* представлены на рис. 6. Клинические проявления болезни не различались у пациентов в зависимости от региона проживания: в г. Томске, сельских районах с высокой и низкой распространенностью описторхоза. Основными симптомами у детей, страдающих ПА, являлись кожные проявления и оральная аллергическая реакция, что соответствует данным литературы, значительно реже регистрировались респираторные и гастроинтестинальные проявления. Так, среди кожных проявлений преобладали уртикарные и эритематозные элементы, сопровождающиеся зудом. Наличие АД подтверждено у 22,03% детей, страдающих ПА.

Симптомы, ассоциированные с оральным аллергическим синдромом, чаще включали зуд и жжение кончика языка, десен, отечность губ. Среди симптомов поражения дыхательных путей преобладали заложенность носа,

насморк, одышка. При этом 64,41% больных ПА страдали АР или аллергическим конъюнктивитом, 27,12% - БА. Вероятно, высокая распространенность симптомов орального аллергического синдрома у данной категории пациентов ассоциирована с перекрестной реактивностью к пыльцевым и пищевым аллергенам. Гастроинтестинальные проявления, зарегистрированные у пациентов с ПА, включали тошноту, рвоту, боли в животе, диарею.



Примечание:

- - Городская выборка
- (серый) - Сельская выборка 1
- (черный) - Сельская выборка 2

Различия при сравнении показателей в группах статистически не значимы (двусторонний точный критерий Фишера)

Рис. 6. Распространенность различных симптомов, ассоциированных с употреблением причиннозначимых аллергенов у больных *истинной пищевой аллергией* в зависимости от региона проживания

Проведен анализ распространенности *латентной пищевой сенсibilизации* у детского населения исследуемых регионов по аналогичному алгоритму. В первую очередь, в качестве критериев *латентной сенсibilизации*

считали наличие положительных результатов КПТ к пищевым аллергенам (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм), либо превышение уровня специфического  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л при отсутствии анамнестических указаний на симптомы ПА у обследуемого индивида. Установлено, что распространенность *латентной сенсibilизации* статистически значимо выше в городской выборке и сельских районах с низким уровнем инвазии (12,28% и 12,24% соответственно), чем в сельских районах с высокой частотой описторхоза (10,82%,  $p < 0,05$  при парных сравнениях).

### **Исследование согласованности результатов кожных прик-тестов и оценки уровня специфического IgE для разработки критериев диагноза пищевой аллергии**

При классическом варианте анализа точности диагностического метода проводят сравнение его результатов с «золотым стандартом» диагностики в контролируемом исследовании. В отношении диагностики ПА таким стандартом являются двойные слепые плацебо-контролируемые провокационные тесты с причиннозначимыми пищевыми аллергенами. В свою очередь, наличие пищевой сенсibilизации верифицируется положительными результатами КПТ или повышенным содержанием специфического  $IgE$  в сыворотке крови. Результаты стандартизации реагентов для определения специфического  $IgE$  позволили производителям рекомендовать к использованию для верификации сенсibilизации показатели специфического  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л. Напротив, диагностическая ценность результатов кожного аллeрготестирования является предметом дискуссий. Учитывая, что в ходе данного исследования не проводили двойные слепые плацебо-контролируемые провокационные тесты, нами проведен анализ согласованности результатов КПТ (ALK-Abelló, Испания) и оценки уровня специфического  $IgE$  (Phadia, Швеция) к ведущим пищевым аллергенам.

В ходе исследования анализировали число совпадений и несовпадений результатов по следующим критериям:

- средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм при КПТ / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л;
- средний диаметр папулы  $\geq 3$  мм при КПТ / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л;
- средний диаметр папулы  $\geq 5$  мм при КПТ / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л.

Прежде всего, следует отметить, что для всех аллергенов при использовании критериев «средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л» получены наиболее высокие коэффициенты согласованности, чем при использовании критериев «средний диаметр папулы  $\geq 3$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л» и «средний диаметр папулы  $\geq 5$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л». Возможно, значительное число детей, имеющих диагностически значимый титр специфических антител, но при этом «слабоположительные» результаты КПТ (средний диаметр папулы  $< 3$  мм), может быть обусловлено влиянием ряда факторов, вызывающих снижение кожной реактивности у жителей г. Томска и Томской области (генетическая предрасположенность, гельминтные инвазии).

Так, при анализе результатов, средний диаметр папулы при КППТ  $\geq 1$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л, для большинства аллергенов установлена умеренная согласованность результатов, а для аллергена яблока – высокая ( $p < 0,001$  для всех случаев). Согласованность результатов - средний диаметр папулы при КППТ  $\geq 3$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  - была умеренной только для трех аллергенов (яблоко, фундук, рыба), для остальных – низкой. При использовании критериев средний диаметр папулы при КППТ  $\geq 5$  мм / специфический  $IgE \geq 0,35$  кЕдА/л только для аллергена рыбы согласованность была расценена как умеренная, для ряда аллергенов (арахис, морковь, томат, подсолнечник) – как низкая, а для аллергена яблока, фундука и яйца согласованность результатов не получена ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, проведенный статистический анализ свидетельствует о том, что использование критерия - средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм - в качестве позитивного результата при выполнении КППТ с пищевыми аллергенами (ALK-Abelló, Испания) в регионах, эндемичных по описторхозу, характеризуется наиболее высокой согласованностью с результатами измерения специфического  $IgE$  (Phadia, Швеция).

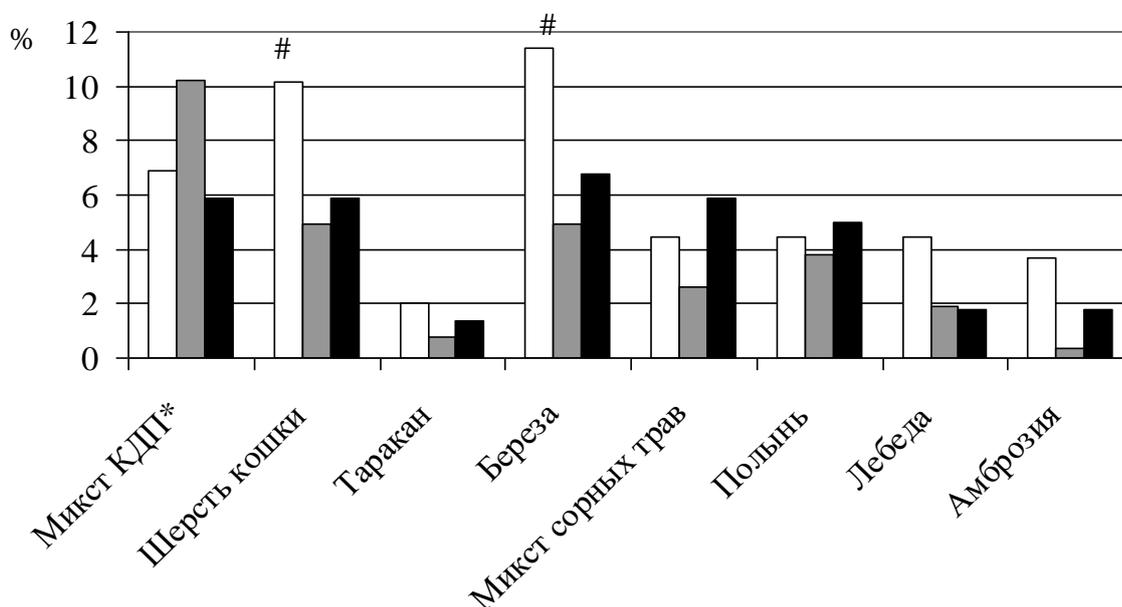
#### **Факторы риска пищевой аллергии**

Как и другие аллергические состояния, ПА является мультифакториальным заболеванием, в реализации риска которого важную роль играет значительное число наследственных и внешнесредовых факторов. Изучение вклада потенциальных факторов риска / протективных факторов в формирование пищевой сенсibilизации и ПА проводили на основании результатов интервьюирования родителей / опекунов с использованием статистического анализа методом множественной логистической регрессии.

Основными клинико-anamnestическими факторами риска истинной ПА у больных АД являются наличие аллергической патологии у отца (odds ratio (OR)=3,12, 95% confidence interval (CI) 1,69-5,73,  $p < 0,01$ ), включая ПА (OR=2,72, 95% CI 1,13-6,32,  $p = 0,01$ ), использование смесей для искусственного вскармливания (OR=1,95, 95% CI 1,01-3,81,  $p = 0,03$ ), наличие высшего образования у матери (OR=3,29, 95% CI 1,86-5,84,  $p < 0,01$ ). Риск развития ПА также возрастает при проживании в течение первых двух лет развития ребенка в городских условиях (OR=1,97, 95% CI 1,13-3,43,  $p = 0,009$ ). Протективная роль в отношении развития ПА установлена для таких факторов, как присутствие домашних животных в доме в раннем возрасте ребенка (OR=0,42, 95% CI 0,24-0,74,  $p = 0,001$ ), в том числе – кошки (OR=0,51, 95% CI 0,29-0,89,  $p = 0,01$ ). Наличие старших детей в семье также ассоциировано со снижением риска развития ПА у ребенка ( $p = 0,015$ ).

Одним из наиболее значимых факторов, влияющих на структуру сенсibilизации к пищевым аллергенам у детей, проживающих в Томской области, является высокая распространенность специфической сенсibilизации к аллергену пыльцы березы Bet v 1. Результаты кожного алерготестирования с коммерческими экстрактами аэроаллергенов продемонстрировали наличие сенсibilизации к аллергену пыльцы березы у 11,38% городских пациентов с

симптомами ПА, что достоверно выше таковой в районах с высоким уровнем описторхоза 4,9%,  $p < 0,05$ . Однако, распространенность сенсibilизации к аллергену пыльцы березы во всех изучаемых выборках превалировала по сравнению с распространенностью сенсibilизации к другим пыльцевым аллергенам (рис. 7).



Примечание:

- - Городская выборка
- (gray) - Сельская выборка 1
- (black) - Сельская выборка 2

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

# -  $p < 0,05$  - в сравнении с сенсibilизацией к данному аллергену в сельской выборке 1 (двусторонний точный критерий Фишера)

Рис. 7. Сенсibilизация к аэроаллергенам в группах больных предполагаемой пищевой аллергией по результатам кожного прик-тестирования (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм)

Очевидно, распространенная в популяции жителей г. Томска сенсibilизация к аллергену Bet v 1 пыльцы березы играет ключевое значение в формировании структуры пищевой сенсibilизации. Данный фактор способствует развитию перекрестной сенсibilизации к гомологичным пищевым аллергенам растительного происхождения (фрукты растений семейства Розоцветные, орехи) у детей вне зависимости от места проживания (г. Томск, сельские районы). С другой стороны, вторичный характер развития сенсibilизации к фруктам и орехам (вследствие предшествующей растительной сенсibilизации) обеспечивает сопоставимо меньшую распространенность тяжелых и жизнеугрожающих форм ПА на данные продукты в сравнении с показателями в странах Европы, где регистрируется

преимущественно первичная пищевая сенсibilизация [Fernandez-Rivas M., 2008].

Установлено, что наличие *истинной ПА* к яблоку и арахису ассоциировано с более высокой интенсивностью сенсibilизации по результатам КПТ и оценки уровня специфического IgE. Также обнаружен более высокий уровень специфического IgE к аллергену пыльцы березы у больных ПА на фундук; у больных ПА на морковь показатели среднего диаметра папулы при КПТ были выше (табл. 5).

Корреляционный анализ подтвердил полученные данные: наиболее высокие показатели зависимости получены при анализе ассоциации сенсibilизации по результатам оценки содержания специфического IgE сыворотки крови к аллергену пыльцы березы и аллергенам фундука ( $r=0,528$ ,  $p<0,05$ ), арахиса ( $r=0,558$ ,  $p<0,05$ ), яблока ( $r=0,552$ ,  $p<0,05$ ) и моркови ( $r=0,548$ ,  $p<0,05$ ).

Распространенность сенсibilизации к ведущим пищевым аллергенам, по результатам оценки специфического IgE сыворотки в исследуемой выборке клинического этапа ( $n=1289$ ), сопоставлена с результатами КПТ и наличием клинических проявлений ПА. Оказалось, что в структуре пищевой сенсibilизации преобладают аллергены фундука, арахиса, яблока, в то время как ведущими пищевыми аллергенами при ПА являются яблоко, рыба, яйцо (табл. 6).

#### **Распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* у детей в г. Томске и сельских районах Томской области**

В ходе клинического этапа исследования проведено изучение распространенности инвазии *Opisthorchis felinus* у детей, проживающих в г. Томске и Томской области. Известно, что стандартом диагностики описторхоза является копроовоскопия, однако, использование данного метода сопровождается высокой частотой ложноотрицательных результатов. Детекция яиц гельминта в дуоденальном содержимом является более чувствительным методом диагностики, но неприемлимым при выполнении эпидемиологического исследования в связи с инвазивностью процедуры. С целью повышения качества выявляемости гельминтоза у обследуемых лиц в исследовании применяли ПЦР-диагностику описторхоза в соответствии с протоколом, разработанным сотрудниками Сибирского государственного медицинского университета и Медицинского центра Лейденского Университета (Нидерланды). Результаты проведенного ранее исследования по валидации данной тест-системы продемонстрировали наиболее высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности метода в сравнении с паразитологическими [Огородова Л.М., Петрова И.В., 2009]. В этой связи критериями наличия описторхозной инвазии считали позитивный результат обследования при копроовоскопии и / или ПЦР-диагностике.

Уровень сенсibilизации к аллергену пыльцы березы у детей в зависимости от наличия *истинной пищевой аллергии* к различным пищевым аллергенам по результатам аллeрготестирования и оценки уровня специфического IgE

Группы	Уровень специфического IgE к аллергену пыльцы березы, кЕдА/л		Средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании с аллергеном пыльцы березы, мм	
	X±SE	p*	X±SE	p*
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к яблоку	36,87±5,17	<b>0,017</b>	4,19±0,68	<b>&lt;0,001</b>
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,44±0,30		0,24±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к томату	35,28±27,49	0,114	2,87±1,74	0,175
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,83±0,23		0,29±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к подсолнечнику	17,86±6,98	0,684	5,01±2,20	0,053
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,91±0,33		0,29±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к арахису	42,86±16,74	<b>0,024</b>	3,64±1,00	<b>0,019</b>
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,71±0,31		0,28±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к фундуку	42,15±18,48	<b>0,019</b>	2,80±1,35	0,292
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,77±0,32		0,29±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к моркови	29,59±15,20	0,195	3,55±0,85	<b>&lt;0,001</b>
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,72±0,30		0,28±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к пшенице	6,21±4,5	0,657	2,50±1,50	0,390
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,93±0,33		0,30±0,03	
Дети, имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i> к дыне	0,25±0,22	0,906	---	---
Дети, не имеющие <i>истинную пищевую аллергию</i>	1,94±0,33		0,30±0,03	

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости (критерий Манна-Уитни)

Диагностику фазы инвазии (острый, хронический описторхоз) проводили на основании общепринятых критериев, принимая во внимание особенности клинического статуса (наличие в анамнезе проявлений холангиохолецистита,

интоксикационного, диспепсического синдромов, рецидивирующих кожных высыпаний, желтухи и т.д.). Диагноз хронического описторхоза устанавливали в случае позитивного результата обследования при копроовоскопии и / или ПЦР-диагностике, а также отсутствии характерных для острого описторхоза симптомов в течение 12-16 недель, предшествующих включению в исследование.

Таблица 6

Распространенность пищевой сенсibilизации и клинических симптомов пищевой аллергии к ведущим пищевым аллергенам

Аллерген	Распространенность сенсibilизации (уровень специфического IgE $\geq 0,35$ кЕдА/л), %	Распространенность сенсibilизации (уровень специфического IgE $\geq 0,35$ кЕдА/л и средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 1$ мм), %	Распространенность клинических симптомов пищевой аллергии в сочетании с сенсibilизацией (уровень специфического IgE $\geq 0,35$ кЕдА/л и средний диаметр папулы при кожном прик-тестировании $\geq 1$ мм), %
Яблоко	5,6	2,9	1,1
Рыба	1,7	1,1	0,8
Яйцо	3,0	0,6	0,4
Фундук	6,2	1,9	0,2
Арахис	3,7	1,9	0,3

Распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* по результатам копроовоскопии и/или ПЦР-диагностики у детей, проживающих в сельских районах с высоким уровнем инвазии, составляет 37,25%, что статистически значимо выше аналогичных показателей в г. Томске и сельских районах с низким уровнем инвазии (16,95% и 20,68% соответственно;  $p < 0,01$  при парных сравнениях).

Важной задачей настоящего исследования являлась оценка роли описторхозной инвазии в формировании *истинной ПА* у детей, проживающих в регионе, эндемичном по данному гельминтозу. Установлено, что данный показатель среди детей, страдающих описторхозной инвазией, вдвое ниже, чем в подгруппе детей, не имеющих описторхоза (2,45% и 5,30% соответственно; OR=0,45, 95% CI 0,19-0,99,  $p=0,03$ ).

Учитывая полученные результаты, представляет интерес участие антигенов *Opisthorchis felinus* в модификации иммунной реактивности и механизмах формирования клинических проявлений ПА у больных, имеющих сформированную пищевую сенсibilизацию. С этой целью проведена стратификация пациентов, имеющих пищевую сенсibilизацию (наличие позитивных результатов КПТ (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм) и/или уровня специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л как минимум к одному «приоритетному» продукту питания) по признаку наличия или отсутствия инвазии *Opisthorchis*

*felineus*. В сформированных таким образом группах изучено количество больных *истинной ПА*. Выполненный статистический анализ продемонстрировал, что вероятность развития *истинной ПА* у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию, достоверно ниже на фоне хронической описторхозной инвазии, чем у неинвазированных лиц (12,90% и 27,42% соответственно; OR=0,39, 95% CI 0,16-0,93, p=0,02).

Проведена оценка среднего диаметра папулы на гистамин, используемый при проведении КПТ обследуемым пациентам. Установлен более низкий показатель у пациентов с *истинной ПА*, страдающих хроническим описторхозом, чем у больных без паразитоза:  $2,5 \pm 0,29$  мм против  $4,55 \pm 0,20$  мм (p=0,002).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о протективной роли хронической инвазии *Opisthorchis felineus* в отношении развития клинических проявлений ПА у пациентов, имеющих пищевую сенсibilизацию по данным КПТ и/или оценки содержания специфического IgE сыворотки.

## **2. Результаты экспериментального исследования**

На первом этапе одномоментного экспериментального исследования «случай-контроль» изучали иммуногенность *Opisthorchis felineus*. С этой целью проведен анализ пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови в краткосрочных культурах клеток больных ПА, хроническим описторхозом и сочетанной патологией, стимулированных неспецифическим митогеном фитогемагглютинином (ФГА) и лизатом зрелых форм описторхисов.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне спонтанной бласттрансформации в клетках больных ПА ( $11,50 \pm 3,54$ ) по сравнению с таковым у больных описторхозом ( $4,75 \pm 1,71$ , p=0,044). Следует отметить, что уровень спонтанной бласттрансформации у больных БА на фоне описторхоза также выше ( $8,50 \pm 2,65$ ), чем у больных описторхозом, но различия не были статистически значимыми.

При использовании антигенной стимуляции ФГА, а также *Opisthorchis felineus* различий в уровне бласттрансформации между исследованными группами больных не выявлено. Однако, уровень пролиферации у больных описторхозом в ответ на стимуляцию *Opisthorchis felineus* выше по сравнению со спонтанным ( $28,06 \pm 5,85$  и  $4,75 \pm 1,71$  соответственно, p=0,002). Аналогичная тенденция установлена при исследовании пролиферативной активности мононуклеаров, полученных от больных ПА на фоне описторхоза ( $31,56 \pm 2,11$  и  $8,50 \pm 2,65$ , p=0,004).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о выраженной способности *Opisthorchis felineus* к стимуляции иммунного ответа, а также способности описторхозных антигенов модифицировать иммунный ответ при аллергии. Предполагается, что данный механизм ассоциирован с активацией супрессорных в отношении аллергического воспаления звеньев иммунитета при описторхозной инвазии.

В рамках настоящего исследования изучено содержание цитокинов IL-4, IL-5, IL-10 и TGF- $\beta$  в культуральной среде после культивирования клеток больных ПА, больных хроническим описторхозом, пациентов с обоими заболеваниями и здоровых детей при помощи метода ELISA.

Согласно результатам экспериментального исследования, наиболее выраженные колебания на фоне стимуляции антигенами зарегистрированы для IL-4, при этом максимальный уровень этого цитокина при любом варианте стимуляции бласттрансформации отмечен в культурах клеток больных ПА (табл. 7). При описторхозе содержание IL-4 приближается к показателям в контрольной группе, не зависимо от варианта стимуляции. Более того, содержание IL-4 в культуральной жидкости пациентов, страдающих ПА в сочетании с описторхозом, статистически значимо ниже, чем у больных ПА (при спонтанной бласттрансформации и после стимуляции ФГА).

Таблица 7

Уровень IL-4 в культуральной жидкости (пг/мл, X $\pm$ SE)

Вариант стимуляции	Группы				p*
	Пищевая аллергия	Описторхоз	Пищевая аллергия и описторхоз	Контроль	
Спонтанная бласттрансформация	6,01 $\pm$ 1,89	3,52 $\pm$ 1,07	4,04 $\pm$ 1,76	3,05 $\pm$ 1,31	<b>0,039</b>
Стимуляция фитогемагглютинином	7,1 $\pm$ 2,12	4,01 $\pm$ 2,08	5,30 $\pm$ 1,72	4,94 $\pm$ 1,92	<b>0,040</b>
Стимуляция <i>Opisthorchis felinus</i>	4,89 $\pm$ 1,74	3,71 $\pm$ 1,07	4,22 $\pm$ 0,80	2,06 $\pm$ 0,98	0,064
p*	<b>0,041</b>	0,634	0,117	0,092	---

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости при сравнении между разными группами и между разными вариантами антигенной стимуляции соответственно (критерий Крускала-Уоллиса)

Напротив, содержание IL-5 в культуральной жидкости статистически не различалось во всех обследованных группах при любом варианте индукции пролиферации мононуклеаров (табл. 8).

Установлено выраженное увеличение содержания IL-10 в культуральной среде мононуклеаров, полученных от больных хроническим описторхозом, после стимуляции антигеном *Opisthorchis felinus* (табл. 9).

При этом содержание IL-10 в культуральной жидкости больных ПА, протекающей на фоне хронического описторхоза достоверно выше, чем у больных изолированной ПА при спонтанной бласттрансформации. По всей видимости, антигены *Opisthorchis felinus* являются наиболее значимым индуктором продукции IL-10, особенно для мононуклеаров больных хроническим описторхозом.

Таблица 8

## Уровень IL-5 в культуральной жидкости (пг/мл, X±SE)

Вариант стимуляции	Группы				p*
	Пищевая аллергия	Описторхоз	Пищевая аллергия и описторхоз	Контроль	
Спонтанная бласттрансформация	6,31±1,89	4,15±1,96	5,01±1,93	3,55±1,97	0,794
Стимуляция фитогемагглютинином	7,87±2,06	6,16±1,88	6,28±1,84	5,15±1,99	0,614
Стимуляция <i>Opisthorchis felinus</i>	8,22±2,94	6,85±2,01	8,26±2,04	5,02±2,01	0,085
p*	0,234	0,650	0,078	0,136	---

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости при сравнении между разными группами и между разными вариантами антигенной стимуляции соответственно (критерий Крускала-Уоллиса)

Таблица 9

## Уровень IL-10 в культуральной жидкости (пг/мл, X±SE)

Вариант стимуляции	Группы				p*
	Пищевая аллергия	Описторхоз	Пищевая аллергия и описторхоз	Контроль	
Спонтанная бласттрансформация	3,21±1,64	6,94±1,19	8,91±2,02	2,38±0,87	<b>0,030</b>
Стимуляция фитогемагглютинином	7,22±2,13	10,10±3,14	7,58±2,78	4,85±1,01	0,056
Стимуляция <i>Opisthorchis felinus</i>	5,14±1,98	12,35±3,07	13,01±2,01	2,95±1,02	<b>0,022</b>
p*	0,067	<b>0,012</b>	0,054	0,103	---

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости при сравнении между разными группами и между разными вариантами антигенной стимуляции соответственно (критерий Крускала-Уоллиса)

Установлено, что уровень TGF-β в культуральной жидкости минимален у пациентов, страдающих ПА, по сравнению с таковым у больных хроническим описторхозом и ПА в сочетании с описторхозом; статистически значимыми оказались различия при анализе спонтанной бласттрансформации, а также при бласттрансформации при стимуляции *Opisthorchis felinus* и ФГА (табл. 10). Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что модификация иммунного ответа при ПА, протекающей на фоне хронического описторхоза, достигается посредством супрессии Т-хелпер 2 - зависимых (Th2) механизмов аллергического воспаления антигенами *Opisthorchis felinus*. Содержание IL-10 и TGF-β статистически значимо выше у больных, страдающих ПА в сочетании с хроническим описторхозом в сравнении с аналогичными показателями у детей с изолированной ПА. Более того, при сопутствующей хронической описторхозной инвазии утрачивается

гиперпродукция IL-4, характерная для пациентов ПА, и содержание данного провоспалительного цитокина приближается к контрольным значениям.

Таблица 10

Уровень TGF- $\beta$  в культуральной жидкости (пг/мл, X $\pm$ SE)

Вариант стимуляции	Группа больных				p*
	Пищевая аллергия	Описторхоз	Пищевая аллергия и описторхоз	Контроль	
Спонтанная бласттрансформация	13,01 $\pm$ 3,46	20,45 $\pm$ 3,37	26,16 $\pm$ 5,44	12,42 $\pm$ 5,74	<b>0,038</b>
Стимуляция фитогемагглютинином	18,12 $\pm$ 3,27	27,22 $\pm$ 5,31	30,36 $\pm$ 6,43	16,88 $\pm$ 5,69	<b>0,026</b>
Стимуляция <i>Opisthorchis felinus</i>	15,97 $\pm$ 2,71	25,24 $\pm$ 5,53	29,01 $\pm$ 7,01	14,60 $\pm$ 4,67	<b>0,039</b>
p*	0,439	0,544	0,067	0,106	---

Примечание:

\* - достигнутый уровень значимости при сравнении между разными группами и между разными вариантами антигенной стимуляции соответственно (критерий Крускала-Уоллиса)

## ВЫВОДЫ

1. Распространенность нежелательных реакций, ассоциированных с употреблением продуктов питания, и их структура не соответствуют распространенности и структуре пищевой аллергии у детей в возрасте 7-10 лет: среди основных продуктов, вызывающих нежелательные реакции, преобладают шоколад, молоко, апельсин; ведущими пищевыми аллергенами являются рыба, яблоко, яйцо, морковь, фундук, арахис. Распространенность пищевой аллергии у детей выше в г. Томске и сельских районах с низким уровнем описторхозной инвазии, чем в сельских населенных пунктах с высокой распространенностью описторхоза (1,4%, 1,5% и 0,8% соответственно).
2. В структуре сенсibilизации у детей по результатам оценки содержания специфического IgE преобладает сенсibilизация к аллергенам фундука, яблока, молока и арахиса. Ведущими причиннозначимыми аллергенами при пищевой аллергии у детей, проживающих в г. Томске являются яблоко, рыба и арахис, в сельских районах с низким уровнем описторхоза – рыба, яйцо, морковь и коровье молоко, в сельских районах с высоким уровнем описторхоза – фундук, яйцо, дыня. Специфическая сенсibilизация к пыльце березы достоверно коррелирует с уровнем специфического IgE к аллергенам фундука, арахиса, яблока и моркови; данные результаты обосновывают механизм перекрестной реактивности при формировании структуры пищевой сенсibilизации и пищевой аллергии у детей в Томской области.
3. Среди клинических проявлений пищевой аллергии у детей ведущее значение имеют эритематозные и уртикарные высыпания,

сопровождающиеся зудом, и оральный аллергический синдром. Реже встречаются симптомы поражения дыхательных путей – заложенность носа, насморк, одышка и гастроинтестинального тракта – тошнота, боли в животе, диарея. Клинические проявления болезни не различаются в зависимости от региона проживания.

4. Факторами риска пищевой аллергии у детей являются наличие аллергической патологии у отца, искусственное вскармливание, проживание в течение первых двух лет развития ребенка в городских условиях. Протективными факторами в отношении пищевой аллергии являются присутствие домашних животных в доме в раннем возрасте ребенка, в том числе – кошки, наличие старших детей в семье.
5. Распространенность инвазии *Opisthorchis felinus* по результатам копроовоскопии и ПЦР-диагностики у детей составляет 17,0% в г. Томске; в сельских районах Томской области данный показатель варьирует от 20,7% до 37,3%.
6. Вероятность развития пищевой аллергии у детей, имеющих пищевую сенсibilизацию, достоверно ниже на фоне хронической описторхозной инвазии, чем у неинвазированных лиц. Модификация иммунного ответа при пищевой аллергии, протекающей на фоне хронического описторхоза, достигается посредством повышения продукции супрессорных цитокинов IL-10 и TGF- $\beta$ , а также снижения гиперпродукции IL-4, характерной для аллергического воспаления.
7. Для диагностики пищевой аллергии у детей целесообразно использовать следующие критерии: наличие симптомов в течение двух часов после употребления продуктов питания, средний диаметр папулы при проведении кожного алерготестирования  $\geq 1$  мм, и/или уровень специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В случае возникновения симптомов непереносимости продуктов питания у детей следует учитывать, что ведущими пищевыми аллергенами в Томской области являются рыба, яблоко, яйцо, морковь, арахис, фундук. Для верификации диагноза пищевой аллергии рекомендуется использовать следующие критерии: наличие клинических симптомов, возникающих в течение двух часов после употребления продукта питания; позитивные результаты кожных прик-тестов к данному пищевому аллергену (средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм) и/или повышение содержания специфического IgE  $\geq 0,35$  кЕдА/л.
2. В регионах, эндемичных по описторхозу, при оценке положительных результатов кожных прик-тестов с пищевыми аллергенами рекомендуется учитывать средний диаметр папулы  $\geq 1$  мм, т.к. данный критерий характеризуется наиболее высокой согласованностью с результатами измерения специфического IgE сыворотки крови.

3. Ввиду того, что многие продукты питания являются поликомпонентными, рекомендуется внимательно изучать их состав, указанный на упаковке. При наличии пищевой аллергии к орехам (арахис, фундук) обоснована элиминационная диета с исключением продуктов, содержащих компоненты орехов (шоколад, кондитерские изделия).
4. Детям, имеющим сенсibilизацию к аллергену Bet v 1 пыльцы березы, рекомендуется проводить комплекс диагностических мероприятий в целях исключения пищевой аллергии к яблоку, фундуку, арахису, моркови.

### **ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Евдокимова, Т.А. Причины неконтролируемого течения бронхиальной астмы, сочетанной с описторхозом, у детей [Текст] / Т.А. Евдокимова, О.С. Федорова // Тезисы докладов XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», Москва. - 2005. - С. 373-374.
2. **Изучение распространенности аллергической патологии и описторхозной инвазии и их взаимосвязи у населения Томской области [Текст] / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдin, А.Э. Сазонов, О.С. Федорова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5, № 4. - С. 48-51.**
3. **A pilot screening of prevalence of atopic states and opisthorchosis and their relationship in people of Tomsk Oblast [Текст] / L.M. Ogorodova, M.B. Freidin, A.E. Sazonov, O.S. Fedorova et al. // Parasitology Research. – 2007. - Vol. 101, I. 4. – P. 1165-1168.**
4. Основы превентивной педиатрии [Текст] : учебное пособие / Т.А. Нагаева, Л.М. Огородова, Е.Б. Кравец, А.А. Ильиных, Н.И. Басарева, О.С. Федорова и др. – Томск : Печатная мануфактура, 2007 г. - 272 с.
5. Распространенность описторхозной инвазии и атопической патологии в Томской области [Текст] / О.С. Федорова, М.С. Санжаровская, Н.Ю. Лебедева и др. // Тезисы докладов XIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство» / Москва, 2007. - С. 593.
6. Эпидемиологическое изучение распространенности аллергической патологии и описторхозной инвазии [Текст] / О.С. Федорова, И.Э. Гербек, Н.Ю. Лебедева и др. // Сборник научных трудов по итогам межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых-педиатров «Здоровье детей – наше будущее», Томск. – 2007. - С. 106-109.
7. **Характеристика эпидемиологических и молекулярных взаимоотношений аллергических и гельминтных болезней в эндемическом очаге описторхоза [Текст] / Л.М. Огородова, О.С. Федорова, М.Б. Фрейдin и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Т. 7, № 4. С. 37-43.**
8. **Гельминты и атопия [Текст] / О.С. Федорова, Н.Ю. Лебедева, Е.С. Куликов и др. // Терапевтический архив. – 2008. - № 11. - С. 47-49.**
9. Федорова, О.С. Изучение аспектов организации питания и медицинской помощи детям, страдающим пищевой аллергией, в школах г. Томска

- [Текст] / О.С. Федорова, О.В. Солодовникова, Д.С. Гонсорунова // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. - Приложение № 2. - С. 189-191.
10. **Пищевая аллергия у детей: аспекты эпидемиологии и естественного течения [Текст] / О.С. Федорова, Л.М. Огородова, О.В. Солодовникова и др. // Педиатрия. – 2009. - Т. 87., № 2, - С. 120-125.**
  11. **Федорова, О.С. Феномен перекрестной реактивности при пищевой аллергии, результаты современных исследований [Текст] / О.С. Федорова, Л.М. Огородова // Российский аллергологический журнал. – 2009. - № 6. - С. 5-11.**
  12. Характеристика сенсibilизации при атопическом дерматите у школьников, проживающих в Томской области [Текст] / Д.С. Гонсорунова, Е.М. Камалтынова, Е.Г. Белоногова, О.С. Федорова и др. // Сборник материалов XIII Конгресса педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» / Союз педиатров России. – Томск, 2009. - С. 25.
  13. Изучение распространенности пищевой аллергии у школьников г. Томска [Текст] / О.С. Федорова, О.В. Солодовникова, Н.В. Косова и др. // Сборник материалов XIII Конгресса педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» / Союз педиатров России. – Томск, 2009. - С. 165.
  14. Организация питания и медицинской помощи детям, страдающим пищевой аллергией, в школах г. Томска [Текст] / О.В. Солодовникова, Д.С. Гонсорунова, Н.В. Косова, О.С. Федорова и др. // Сборник научных трудов по итогам межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых-педиатров «Здоровье детей – наше будущее», Томск. – 2009. - С. 105-107.
  15. Солодовникова, О.В. Изучение организации питания и медицинской помощи детям, страдающим пищевой аллергией, в школах г. Томска [Текст] / О.В. Солодовникова, О.С. Федорова, Д.С. Гонсорунова // Сборник материалов XIII Конгресса педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» / Союз педиатров России. – Томск, 2009. - С. 148.
  16. **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, L. Ogorodova, T.F. Leung, O.S. Fedorova et al. [Текст] // Allergy. – 2010. - Vol. 65, I. 3. - P. 385 - 390.**
  17. **ДНК-диагностика микст-инвазий *Opisthorchis felinus* и *Metorchis bilis* с помощью метода ПЦР / И.И. Брусенцов, А.В. Катохин, З.В. Сахаровская, А.Э. Сазонов, Л.М. Огородова, О.С. Федорова и др. [Текст] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2010. – №2. – С. 10-13.**
  18. **Влияние инвазии *Opisthorchis felinus* на иммунный ответ при бронхиальной астме [Текст] / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, А.Э. Сазонов, О.С. Федорова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т. 9, №3. - С. 85-90.**

19. Федорова, О.С. Распространенность пищевой аллергии у детей в мировом очаге описторхоза [Текст] / О.С. Федорова // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т 9, №5. – С. 102-107.
20. 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 [Текст] / Л.М. Огородова, О.С. Федорова, И.А. Деев // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т 9, №5. - С. 72-76.
21. Эпидемиологические и клинические особенности атопического дерматита у детей, проживающих в регионе, эндемичном по описторхозу [Текст] / Л.М. Огородова, Е.М. Камалтынова, И.А. Деев, Е.Г. Белоногова, О.С. Федорова и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, №3. - С. 50-53.
22. Косова, Н.В. Распространенность пищевой сенсбилизации у школьников г. Томска и сельских районов Томской области по данным исследования «EuroPrevall» [Текст] / Н.В. Косова, О.С. Федорова // Сборник материалов XIV Конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» / Союз педиатров России. – Москва, 2010. - С. 431.

#### Условные сокращения

АР – аллергический ринит  
 БА – бронхиальная астма  
 ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота  
 КК - коэффициент каппа  
 КДП – микст клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*  
 КПТ - кожные прик-тесты  
 ПА – пищевая аллергия  
 ПЦР - полимеразная цепная реакция  
 РБТЛ - реакция бласттрансформации лимфоцитов  
 ФГА - фитогемагглютинин  
 Bet v1 – аллерген пыльцы березы  
 CI - confidence interval  
 EAACI – European Academy of Allergy and Clinical Immunology  
 ELISA - Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay  
 EuroPrevall - «The Prevalence, Cost and Basis of Food Allergy Across Europe»  
 IgE – иммуноглобулин класса Е  
 IL – интерлейкин  
 ImmunoCAP – иммунофлюоресцентный анализ содержания IgE  
 INCO – страны международного партнерства  
 OR - odds ratio  
 TGF-beta – трансформирующий фактор роста -  $\beta$   
 Th - Т-хелпер

Подписано в печать 20 октября 2010 г.  
Усл. печ. листов 2,5 Печать на ризографе  
Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ  
634050, г. Томск, Московский тр., 2, тел. 53-04-08  
Заказ № 280 Тираж 100 экземпляров