

Оценка сенсibilизации к бытовым аллергенам с помощью КВЧ-диэлектromетрии

Э.Н. Солошенко¹, А.К. Кондакова¹, В.Г. Колесников², Н.В. Хмель²,
З.М. Шевченко¹, Т.П. Ярмак¹

¹ ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

² Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины

Резюме

В связи с ростом распространенности и тяжестью аллергических заболеваний разработка новых экспресс-методов оценки сенсibilизации к различным аллергенам, в частности к бытовым, на современном этапе является актуальной задачей.

Цель данной работы состояла в оценке возможности применения метода КВЧ-диэлектromетрии для выявления сенсibilизации к бытовым неинфекционным аллергенам. Под наблюдением находились 42 больных дерматозами (28 женщин, 14 мужчин) в возрасте от 25 до 63 лет, у которых в анамнезе была повышенная чувствительность к бытовым аллергенам. Сенсibilизацию к аллергенам домашней пыли и пера подушки определяли с помощью реакции агломерации лейкоцитов и оценки скорости оседания эритроцитов, нагруженных аллергенами. Параллельно исследовали диэлектрическую проницаемость крови с помощью КВЧ-диэлектromетрии. В образцах крови пациентов в присутствии бытовых аллергенов выявляли увеличение показателя, характеризующего действительную часть диэлектрической проницаемости. Отмечали прямую корреляционную зависимость результатов диэлектрической проницаемости крови и реакции агломерации лейкоцитов, а также скорости оседания эритроцитов, нагруженных аллергеном, что позволяет в перспективе рекомендовать КВЧ-диэлектromетрию в качестве экспресс-метода в комплексной диагностике сенсibilизации к бытовым аллергенам.

Ключевые слова: КВЧ-диэлектromетрия, сенсibilизация, бытовые аллергены, кровь.

Введение

Последние десятилетия характеризуются повсеместным ростом числа и тяжести аллергических заболеваний, вызванных химизацией производства, быта, разработкой и использованием новых лекарственных препаратов, продуктов питания, строительных материалов и загрязнением окружающей среды. Об увеличении заболеваемости лекарственной болезнью, пищевой, пыльцевой и бытовой аллергией во всем мире, в том числе в Украине, свидетельствуют статистические данные ВОЗ [6–8, 11]. Среди бытовых аллергенов наибольшую сенсibilизирующую активность, согласно литературным данным, имеют аллергены клещей, грибов и бактерий домашней пыли, шерсти животных и пера птиц [9, 12]. Однако, несмотря на широкое распространение сенсibilизации на бытовые аллергены, ее лабораторная диагностика затруднена из-за отсутствия

в учреждениях дерматовенерологического, аллергологического и иммунологического профиля достаточно простых и чувствительных методик. Поэтому разработка новых экспресс-методов оценки сенсibilизации к бытовым аллергенам продолжает оставаться актуальной проблемой на современном этапе.

Цель настоящей работы – оценка возможности применения метода КВЧ-диэлектromетрии для диагностики сенсibilизации к бытовым неинфекционным аллергенам (домашней пыли, перу подушки).

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 42 пациента с распространенными дерматозами (28 женщин, 14 мужчин) в возрасте от 25 до 63 лет, у которых в анамнезе была повышенная чувствительность к бытовым аллергенам. Контрольная группа состояла из 13 практически здоровых доноров. Объектом исследования

была цельная венозная кровь, стабилизированная 3,8% раствором цитрата натрия. В качестве бытовых аллергенов использовали неинфекционные иммунобиологические препараты – аллерген из домашней пыли ($c = (10000 \pm 2000)$ PNU/мл) и аллерген из пера подушек ($c = (10000 \pm 2000)$ PNU/мл), представляющие собой водно-солевые растворы белково-полисахаридных комплексов, выделенных из соответствующего сырья путем экстракции жидкостью Эванса – Коха (производитель ООО «Имунолог», Винница).

Для более точной диагностики бытовой аллергии сенсibilизацию к аллергенам домашней пыли и перу подушки выявляли двумя методами: с помощью реакции агломерации лейкоцитов (РАЛ) [5] и путем оценки скорости оседания эритроцитов (СОЭ), нагруженных аллергенами. При постановке РАЛ использовали цитратную кровь, смешанную с аллергеном (опытный образец) и с физиологическим раствором (контрольный образец) в соотношении 1:1. Образцы инкубировали 2 ч при температуре 37 °С. Показатель агломерации лейкоцитов выражали в условных единицах по наибольшему числу склеившихся лейкоцитов в трех и более агломератах. Проба считалась положительной, если в опыте показатель агломерации был на 1/3 выше, чем в контроле.

Для выявления сенсibilизации с помощью СОЭ, нагруженных аллергеном, готовили смесь из цитратной крови и физиологического раствора в соотношении 1:1, тщательно перемешивая ингредиенты в силиконированной преципитационной или вассермановской пробирке. Из этой пробирки смесь набирали в силиконированный капилляр Панченкова до метки «0» и укрепляли его в аппарате Панченкова (контрольный образец). Во второй преципитационной или вассермановской силиконированной пробирке цитратную кровь в соотношении 1:1 смешивали с раствором бытового аллергена. Смесь цитратной крови и бытового аллергена набирали в силиконированный капилляр до метки «0» и укрепляли в аппарате Панченкова (опытный образец). Реакцию оценивали через 3 ч при температуре 37 °С. Результаты считали положительными в случае уменьшения или ускорения СОЭ в опыте по сравнению с контролем не менее чем на 20% [2].

Параллельно определяли сенсibilизацию к бытовым аллергенам методом КВЧ-диэлектротрии. Опытные и контрольные образцы цитратной крови готовили аналогичным образом, как для РАЛ и седиментации эритроцитов, нагруженных аллергеном. Диэлектрическую проницаемость крови анализировали по изменению действительной части комплексной диэлектрической проницаемости – $\Delta\epsilon'$, позволяющей на частоте ($f = 37,7$ ГГц), входящей в область дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды, определять относительное изменение свободной и связанной воды в биологической системе.

Точность относительных измерений по $\Delta\epsilon'$ составляла $\pm 0,5\%$; абсолютных – $\pm 2,5\%$.

Статистическую обработку результатов и расчет коэффициента корреляции проводили с использованием пакета статических программ *Microsoft Excel*, включая элементы медицинской статистики.

Результаты и их обсуждение

Известно, что бытовые аллергены обладают специфической активностью, активным веществом является протеиново-полисахаридный комплекс, который при постановке не только кожных и провокационных проб, но и иммунологических тестов позволяет диагностировать наличие сенсibilизации к ним.

В таблице 1 представлены результаты РАЛ, подтверждающие у больных дерматозами данные алергологического анамнеза о наличии у них сенсibilизации к бытовым аллергенам. Так, показатели РАЛ в опытных образцах крови по сравнению с контрольными имели достоверные различия как в присутствии аллергена домашней пыли, так и пера подушки.

В таблице 2 представлены результаты обследования больных дерматозами с помощью седиментации эритроцитов, нагруженных аллергеном. Как видно из данных таблицы 2, в группе больных дерматозами,

Таблица 1

Результаты РАЛ в присутствии неинфекционных бытовых аллергенов у больных дерматозами с сенсibilизацией к бытовым аллергенам (у. е.)

Обследуемые группы	Контрольный образец	Опытные образцы	
		Домашняя пыль	Перо подушки
Практически здоровые доноры, n = 13	1,75 ± 0,02	1,69 ± 0,05	1,72 ± 0,04
Больные дерматозами с сенсibilизацией к бытовым аллергенам, n = 42	1,8 ± 0,05	4,0 ± 0,07*	3,5 ± 0,06*

Примечание: * отличия по сравнению с показателями контрольных образцов достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 2

Результаты СОЭ в присутствии неинфекционных бытовых аллергенов у больных дерматозами с сенсibilизацией к бытовым аллергенам (мм)

Обследуемые группы	Контрольный образец	Опытные образцы	
		Домашняя пыль	Перо подушки
Практически здоровые доноры, n = 13	8,5 ± 1,4	7,6 ± 2,0	9,0 ± 2,3
Больные дерматозами с сенсibilизацией к бытовым аллергенам, n = 42	10,3 ± 2,7	17,8 ± 4,0*	15,7 ± 3,7*

Примечание: * отличия по сравнению с показателями контрольных образцов достоверны ($p < 0,05$).

у которых в анамнезе были указания на сенсibiliзацию к бытовым алергенам, показатели опытных образцов седиментации эритроцитов, нагруженных алергеном, имели достоверные отличия от показателей контрольных образцов: в присутствии алергена домашней пыли уровень СОЭ в среднем по группе повышался на 73%, в присутствии алергена пера подушки – на 52%.

Основываясь на данных, что различные функциональные состояния крови зависят от состояния гидратных оболочек клеточных элементов и макромолекул, что не может не отражаться на значениях компонент-комплексной диэлектрической проницаемости, целью нашего дальнейшего исследования явилось изучение диэлектрической проницаемости крови у больных дерматозами, в анамнезе у которых были указания на бытовую алергию [1, 3, 4, 10]. Результаты этих исследований представлены в таблице 3.

Как видно из данных таблицы, в опытных образцах крови больных в присутствии бытовых алергенов по сравнению с контрольными образцами отмечалось достоверное увеличение показателей действительной части диэлектрической проницаемости, что может быть обусловлено количеством связанной воды на мембранных и внутриклеточных структурах при сенсibiliзации к алергенам. Более выраженное увеличение количества связанной воды регистрировалось в присутствии алергена домашней пыли, при котором диэлектрическая проницаемость крови увеличивалась в 2 раза по сравнению с исходным фоном. Изменение параметра диэлектрической проницаемости в опытных образцах в присутствии алергена пера подушки по сравнению с контрольными образцами (без алергена) также было достоверным, хотя и менее выраженным – отмечается увеличение изучаемого показателя в 1,5 раза (см. табл. 3).

Сравнительный анализ полученных данных с помощью КВЧ-диэлектromетрии с результатами РАЛ и СОЭ свидетельствовал, что при показателях, характеризующих менее выраженную сенсibiliзацию к бытовым алергенам по данным вышеуказанных тестов, регистрируются и меньшие показатели диэлектрической проницаемости крови. Установлена

Таблица 3 Показатели диэлектрической проницаемости $\Delta\epsilon'$ цитратной крови в присутствии неинфекционных бытовых алергенов у больных дерматозами, у которых в анамнезе были указания на бытовую алергию (Ф/м)			
Обследуемые группы	Контрольные образцы	Опытные образцы	
		Домашняя пыль	Перо подушки
Практически здоровые доноры, n = 13	$(1,76 \pm 0,005) \times 10^{-12}$	$(2,64 \pm 0,007)^* \times 10^{-12}$	$(1,76 \pm 0,007) \times 10^{-12}$
Больные дерматозами с сенсibiliзацией к бытовым алергенам, n = 42	$(3,52 \pm 0,005) \times 10^{-12}$	$(7,05 \pm 0,007)^* \times 10^{-12}$	$(5,29 \pm 0,007)^* \times 10^{-12}$

Примечание: * отличия по сравнению с показателями контрольных образцов достоверны ($p < 0,05$).

тесная положительная корреляция между результатами, полученными РАЛ и КВЧ-диэлектromетрией. Коэффициент корреляции в случае выявления сенсibiliзации к алергенам домашней пыли составил $r = 0,88$, а в случае сенсibiliзации к алергенам пера подушки – $r = 0,86$. Статистическая обработка полученных результатов КВЧ-диэлектromетрии и СОЭ, нагруженных алергенами, также свидетельствовала о высокой корреляции между показателями диэлектрической проницаемости крови и СОЭ как в случае выявления сенсibiliзации к алергенам домашней пыли ($r = 0,93$), так и в случае выявления сенсibiliзации к алергенам пера подушки ($r = 0,91$).

Выводы

Полученные методом КВЧ-диэлектromетрии параметры диэлектрической проницаемости тесно коррелируют с результатами РАЛ и СОЭ, нагруженных алергенами. Учитывая быстроту получения диэлектрических характеристик (в течение 7 мин), а также использование небольшого объема цитратной крови ($V = 0,17$ мл) по сравнению с постановкой РАЛ в течение 5–6 ч и СОЭ в течение 3 ч, метод КВЧ-диэлектromетрии можно рекомендовать в качестве экспресс-теста для диагностики сенсibiliзации к бытовым алергенам.

Список литературы

- Новицкий В.В. Роль изменений эритроцитов при хронических окклюзионных заболеваниях артерий нижних конечностей / В.В. Новицкий, А.Г. Соколович, Н.В. Рязанцева // Клин. медицина. – 2000. – № 6. – С. 36–39.
- Солошенко Э.Н. Экспресс-диагностика лекарственных дерматозов / Э.Н. Солошенко // Информационное письмо. – 1983. – 2 с.
- Рязанцева Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиол. наук. – 2004. – № 1. – С. 53–65.
- Рязанцева Н.В. Эритроцит при патологии: размышления у электронного микроскопа / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая, С.Б. Ткаченко // Арх. патологии. – 2004. – № 3. – С. 53–61.
- Юсипова И.П. Техника агломерационной пробы для диагностики лекарственной алергии / И.П. Юсипова, А.Н. Мац, В.Е. Туганова // Клиническая медицина. – 1972. – Т. 50. – № 4. – С. 107–110.
- Efficacy and safety of SQ house dust mite (HDM) slit-tablet treatment of HDM allergic asthma / G.W. Canonica, J.C. Virchow, P. Zieglermayer [et al.] // Expert review of clinical immunology. – 2016. – Vol. 12. – N 8. – P. 805–815.
- Hamid Q. Immunobiology of asthma / Q. Hamid, M. Tulic // Annu. Rev. Physiol. – 2009. – Vol. 71. – P. 489–507.
- House dust mite interactions with airway epithelium: role in allergic airway inflammation / V.D. Gandhi, C. Davidson, M. Asaduzzaman [et al.] // Curr. Allergy Asthma Rep. – 2013. – Vol. 13. – P. 262–270.

References

- Novitskiy VV, Sokolovich AG, Ryazantseva NV. Rol izmeneniy eritrotsitov pri khronicheskikh okklyuzionnykh zabolevaniyakh arteriy nizhnikh konechnostey (Role of changes of erythrocytes at the chronic occlusal diseases of arteries of lower limbs). Klin. Meditsina. 2000;6:36–39.
- Soloshenko EM. Ekspres-diagnostika lekarstvennykh dermatozov (Express-diagnostics of medicinal dermatosis). Informatsionnoye pismo, 1983. 2 p.
- Ryazantseva NV, Novitskiy VV. Tipovyye narusheniya molekulyarnoy organizatsii membrany eritrotsita pri somaticheskoy i psikhicheskoy patologii (Model violations of molecular organization of membrane of erythrocytes at somatic and psychical pathology). Uspekhi fiziol. Nauk. 2004;1:53–65.
- Ryazantseva NV, Novitskiy VV, Stepovaya EA, Tkachenko SB. Eritrotsit pri patologii: razmysleniya u elektronnoy mikroskopa (Erythrocytes at pathology: reflections at an electronic microscope). Arkh. Patologii. 2004;3:53–61.
- Yusipova IP, Mats AN, Tuganova VE. Tekhnika aglomeratsionnoy proby dlya diagnostiki lekarstvennoy allergii (Technique of sintering test for diagnostics of medicinal allergy). Klinicheskaya meditsina. 1972;50(4):107–110.
- Canonica GW, Virchow JC, Zieglermayer P, et al. Efficacy and safety of SQ house dust mite (HDM) slit-tablet treatment of HDM allergic asthma. Expert review of clinical immunology. 2016;12(8):805–815.
- Hamid Q, Tulic M. Immunobiology of asthma. Annu. Rev. Physiol. 2009;71:489–507.
- Gandhi VD, Davidson C, Asaduzzaman M, et al. House dust mite interactions with airway epithelium: role in allergic airway inflammation. Curr. Allergy Asthma Rep. 2013;13:262–270.

9. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? / M.A. Calderon, A. Linneberg, J. Kleine-Tebbe [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2015. – Vol. 136. – P. 38–48.
 10. Selvaraj N. Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes / N. Selvaraj, Z. Bobby, V. Sathiyapriya // Clin. Chim. Acta. – 2006. – Vol. 366 (1–2). – P. 190–195.
 11. SQ house dust mite (HDM) slit-tablet provides clinical improvement in HDM-induced allergic rhinitis / L. Klimek, H. Mosbech, P. Ziegelmayer [et al.] // Expert review of clinical immunology. – 2016. – Vol. 12. – N 4. – P. 369–377.
 12. T follicular helper cell plasticity shapes pathogenic T helper cell-mediated immunity to inhaled house dust mite / A. Ballesteros-Tato, T.D. Randall, F.E. Lund [et al.] // Immunity. – 2016. – Vol. 44. – N 2. – P. 259–273.

9. Calderon MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J. Allergy Clin. Immunol. 2015; 136:38–48.
 10. Selvaraj N, Bobby Z, Sathiyapriya V. Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. Clin. Chim. Acta. 2006;366(1–2):190–195.
 11. Klimek L, Mosbech H, Ziegelmayer P, et al. SQ house dust mite (HDM) slit-tablet provides clinical improvement in HDM-induced allergic rhinitis. Expert review of clinical immunology. 2016;12(4):369–377.
 12. Ballesteros-Tato A, Randall TD, Lund FE, et al. T follicular helper cell plasticity shapes pathogenic T helper cell-mediated immunity to inhaled house dust mite. Immunity. 2016;44(2):259–273.

ОЦІНКА СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО ПОБУТОВИХ АЛЕРГЕНІВ ЗА ДОПОМОГОЮ НВЧ-ДІЕЛЕКТРОМЕТРІЇ

Е.М. Солошенко¹, Г.К. Кондакова¹, В.Г. Колесніков², Н.В. Хмель², З.М. Шевченко¹, Т.П. Ярмак¹

¹ ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

² Інститут радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України

Резюме

У зв'язку з ростом поширеності та тяжкості алергічних захворювань розробка нових еспрес-методів оцінки сенсibilізації до різних алергенів, у тому числі побутових, на сучасному етапі є актуальною задачею.

Мета даної роботи полягала в оцінці можливості застосування НВЧ-діелектрометрії для виявлення сенсibilізації до побутових неінфекційних алергенів. Під наглядом знаходились 42 хворих на дерматози (28 жінок, 14 чоловіків) віком від 25 до 63 років, у яких в анамнезі була підвищена чутливість до побутових алергенів. Сенсibilізацію до алергенів домашнього пилу та пір'я птиці визначали за допомогою реакції агломерації лейкоцитів та оцінки швидкості осідання еритроцитів, навантажених алергенами. Паралельно досліджували діелектричну проникність крові за допомогою НВЧ-діелектрометрії. У зразках крові пацієнтів у присутності побутових алергенів виявляли збільшення показника, який характеризує дійсну частину діелектричної проникності. Відмічали пряму кореляційну залежність результатів діелектричної проникності крові і реакції агломерації лейкоцитів, а також швидкості осідання еритроцитів, навантажених алергенами, що дозволяє в перспективі рекомендувати НВЧ-діелектрометрію як еспрес-метод в комплексній діагностиці сенсibilізації до побутових алергенів.

Ключові слова: НВЧ-діелектрометрія, сенсibilізація, побутові алергени, кров.

ESTIMATION OF SENSITISATION TO DOMESTIC ALLERGENS BY MEANS OF EHF-DIELECTROMETRY

E.N. Soloshenko¹, A.K. Kondakova¹, V.G. Kolesnikov², N.V. KhmiP², Z.M. Shevchenko¹, T.P. Yarmak¹

¹ SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

² O.Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics of NAS of Ukraine

Abstract

At present time it is actual to develop of new express-methods for estimation of a sensitisation to various allergens, in particular to domestic allergens, because of increase of growth, prevalence and heaviness of the allergic diseases.

The objective of the work is estimation of possibility of application of EHF-dielectrometry method for diagnostics to domestic not infectious allergens. Under monitoring had been 42 patient by dermatosis (28 women, 14 men) at the age from 25 till 63 years which in the anamnesis had a hypersensitivity to domestic allergens. The sensitisation to allergens of domestic dust and a pillow's feather was defined with the help of leukocytes' agglomeration reaction and the estimation of erythrocytes' sedimentation in the presence of domestic allergens. At parallel the dielectric permeability of blood was investigated by means of EHF-dielectrometry of millimetric range of radio-waves. In samples of blood of patients in the presence of domestic allergens was revealed the increase of real part dielectric permeability. It is noticed the direct correlation dependence of results of dielectric permeability of blood and leukocytes' agglomeration reaction, and also erythrocytes' sedimentation coated with allergen that allows to recommend in the long term EHF-dielectrometry as an express method in complex diagnostics of a sensitisation to domestic allergens.

Key words: EHF-dielectrometry, sensitisation, domestic allergens, blood.

Сведения об авторах:

Солошенко Эльвира Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Кондакова Анна Константиновна – канд. биол. наук, зам. директора по научной работе ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Колесников Владимир Григорьевич – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины; e-mail: kolesnik@ire.kharkov.ua

Хмель Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины.

Шевченко Зоя Михайловна – мл. науч. сотр. лаборатории аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Ярмак Татьяна Павловна – мл. науч. сотр. лаборатории аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».