

УДК 616.31:57.083.184/.185

DOI: 10.14427/jipai.2020.2.41

Повышение пероксидазной активности ротовой жидкости на яблочный сок у пациентов с положительным прик-прик тестом

Е.Ф. Мацко

Витебский государственный медицинский университет

Oral fluid peroxidase activity increase responsive to apple juice in patients with positive prick-prick test

E.F. Matsko

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Цель. Диагностика аллергии на яблоки путем оценки пероксидазной активности ротовой жидкости (ПАРЖ) после орально-фарингеального теста со свежеприготовленным яблочным соком и прик-прик теста.

Материалы и методы. Обследовано 27 пациентов с клинической непереносимостью свежих яблок и пыльцы березы и 28 здоровых добровольцев. Всем обследуемым проведен открытый провокационный орально-фарингеальный тест со свежеприготовленным яблочным соком сорта Golden Delicious с последующей спектрофотометрической оценкой ПАРЖ. Всем участникам поставлен прик-прик тест со свежими яблоками сортов Голден Делишес и Ред Принц.

Результаты. У 78% пациентов с пищевой аллергией на яблоки обнаружен значимый прирост уровня ПАРЖ $Me=40,9(18,9;69,1)\%$, по сравнению с контрольной группой $Me=3,2(-1,2;7,6)\%$, ($p=0,000001$). В контрольной группе прирост уровня ПАРЖ $+23,4\%$ был зарегистрирован у 1 человека (4%). Результаты прик-прик тестов с яблоками Голден Делишес и Ред Принц были положительны у 96% пациентов. Кожная реакция на Ред Принц более выражена на кожуру яблок $Me=400,0(110;470) \text{ мм}^2$, чем на мякоть $Me=391,5(95,6;465) \text{ мм}^2$, ($p=0,038$). Площадь кожной реакции на кожуру ($p=0,004$) и мякоть ($p=0,001$) достоверно больше на яблоко сорта Ред Принц, чем на Голден Делишес. Выявлена корреляция между размерами кожных волдырей после скарификационных проб с аллергеном из пыльцы березы и прик-прик тестом с 2-мя сортами яблок ($r_1=0,71$, $r_2=0,69$).

Выводы. Перекрестная пищевая аллергия на яблоки, установленная с использованием прик-прик теста со свежими яблоками (в 96% случаев), была подтверждена провокационным орально-фарингеальным тестом с определением уровня ПАРЖ в 78% случаев. Повышение уровня ПАРЖ в сочетании с положительным прик-прик тестом было обнаружено у большинства пациентов с аллергией на яблоки, что позволяет применять данные методы совместно. У пациентов с

Summary

Purpose. Diagnosis of allergy to apples by assessment of the peroxidase activity of oral fluid (PAOF) after an oral-pharyngeal test with freshly prepared apple juice and a prick-prick test.

Materials and methods. 27 patients with clinical intolerance to fresh apples and birch pollen and 28 healthy volunteers were examined. All subjects underwent an open provocative oral-pharyngeal test with freshly prepared Golden Delicious apple juice, followed by spectrophotometric evaluation of PAOF. The prick-prick test was performed to all participants with fresh apples of the Golden Delicious and Red Prince varieties.

Results. 78% of patients with food allergies to apples showed a significant PAOF level increase $Me=40.9(18.9;69.1)\%$, compared with the control group $Me=3.2(-1.2;7.6)\%$, ($p=0.000001$). In the control group, PAOF level increase $+23.4\%$ was recorded in 1 case (4%). The prick-prick test with Golden Delicious and Red Prince apples were positive in 96% of patients. The skin reaction to Red Prince is more pronounced on the peel $Me = 400.0(110;470) \text{ mm}^2$ than on the flesh $Me=391.5(95.6;465) \text{ mm}^2$, ($p=0.038$). The area of skin reaction to the peel ($p=0.004$) and flesh ($p=0.001$) is significantly larger on the Red Prince apple than on the Golden Delicious. A correlation was found between the size of skin blisters after scarification tests with birch pollen allergen and a prick-prick test with 2 varieties of apples ($r_1=0.71$, $r_2=0.69$).

Findings. Cross food allergy to apples, established using the prick-prick test with fresh apples (in 96% of cases), was confirmed by a provocative oral-pharyngeal test with determination of PAOF level in 74% of cases. PAOF level increase in combination with the positive prick-prick test was found in most patients allergic to apples, which makes it possible to use these methods together. In patients with food allergy to apples, PAOF level increase after the provocation test is significantly higher than in healthy volunteers ($p=0.000001$). Sensitization is more pronounced for red apples (Red Prince) than for green apples (Golden Delicious).

пищевой аллергией на яблоки прирост уровня ПАРЖ после провокационного теста достоверно выше, чем у здоровых добровольцев ($p=0,000001$). Сенсibilизация более выражена к красным яблокам (Ред Принц), чем к зеленым (Голден Делишес).

Ключевые слова

Пероксидазная активность, ротовая жидкость, орально-фарингеальный тест, прик-прик тест.

Яблоки являются распространенными фруктами не только в Республике Беларусь, но и во всем мире. В 2017 году их производство составило 83 миллиона тонн [1]. Несмотря на то, что яблоки считаются гипоаллергенными продуктами, с каждым годом число случаев аллергических реакций на них растет. Непереносимость фруктов встречается у 11,5% детей и 6,6% взрослых, 8,5% из которых имеют в анамнезе аллергические реакции на яблоки [2]. В Европе до 2% населения отмечают их непереносимость [3].

Повышенная чувствительность к яблокам обусловлено присутствием в плодах целого ряда аллергенных белков (основные аллергены Mal d1, Mal d2, Mal d3 и Mal d4) [4]. Установлено, что среди пациентов, страдающих аллергией на яблоки, реактивность на аллергены распределена следующим образом: 87% реагируют на Mal d1, 57% – на Mal d2, 31% – Mal d3, 29% – Mal d4 [1]. В составе яблок присутствует большое количество белков с молекулярными массами от 9 до 60 кДа [1].

До 70% пациентов с аллергией на пыльцу березы имеют непереносимость растительной пищи [5]. Аллергики, имеющие в анамнезе сезонный риноконъюнктивит и/или астму нередко отмечают аллергические реакции со стороны слизистых оболочек после употребления в пищу свежих яблок. Это обусловлено IgE-опосредованной перекрестной реактивностью между белками аллергенов, имеющих сходную аминокислотную последовательность и конфигурацию молекул [6, 7].

Основной виновный аллерген, который вызывает перекрестную реакцию более чем у 90% пациентов с аллергией на растительную пищу, связанную с аллергией на пыльцу березы, является Bet v1, PR-10 [8]. Bet v1 обуславливает кроссреактивность с белком Mal d1, присутствующем в кожуре и мякоти яблок. Гомология последовательности PR-10 с последовательностью Mal d1 яблока составляет 57%. Сравнение последовательностей Mal d1 и Bet v1 выявило

Keywords

Peroxidase activity, oral-pharyngeal test, oral fluid, prick-prick test.

идентичность аминокислот – 64,5% и идентичность нуклеиновых кислот – 55,6% [9].

Клиническая непереносимость яблок, как правило, представлена синдромом оральной аллергии (СОА), объединяющим в себе все аллергические проявления со стороны ротоглотки. Ведущими симптомами СОА являются зуд и покалывающая боль слизистой рта, дисфония, внезапно начинающийся отек губ, языка, мягкого неба и глотки, иногда сопровождаемые зудом в ушах и ощущением «комка в горле» [10]. Симптомы возникают в течение короткого времени после употребления пищи и, как правило, самостоятельно разрешаются за нескольких минут [10].

В северной Европе наиболее частой причиной СОА являются фундук, яблоко, груша, морковь, картофель и вишня [6, 11, 12, 13], тогда как в южной Европе – персик, яблоко, дыня, киви, каштаны [14, 15]. В связи с распространенностью в Республике Беларусь яблок, их широкой доступностью, частым употреблением в пищу и взрослыми, и детьми, мы решили разработать и модифицировать методы диагностики аллергии на яблоки.

Стандартом диагностики пищевой аллергии являются открытые провокационные тесты с пищевыми аллергенами с постепенным наращиванием доз аллергена. Однако следует понимать, что они связаны с риском развития тяжелых системных аллергических реакций (анафилаксия, бронхоспазм и др.) [16], а также развитием неспецифических дозозависимых аллергических реакций [17, 18].

В связи с тем, что основным проявлением непереносимости яблок является СОА, а орган-мишень – слизистая оболочка полости рта и глотки, мы исследовали ротовую жидкость (РЖ). А именно, уровень активности миелопероксидазы – фермента, отвечающего за развитие аллергического воспаления. Мы применяли провокационный орально-фарингеальный тест с субклиническими дозами аллергена (яблочный сок) с последующей

оценкой пероксидазной активности ротовой жидкости (ПАРЖ) [19].

Миелопероксидаза – фермент, представленный в большом количестве в азурофильных гранулах нейтрофилов. На поверхности нейтрофилов расположены Fc-рецепторы для IgE, благодаря чему они могут связывать эти антитела. Нейтрофилы больных аллергией экспрессируют низкоаффинные FcεRII и высокоаффинные FcεRI рецепторы, которые связывают IgE [20]. Следствием взаимодействия IgE-антител сенсibilизированного человека со значимым аллергеном является дегрануляция нейтрофилов [21]. Вследствие этого, из нейтрофилов выбрасывается большое количество биологически активных веществ и ферментов, в том числе – миелопероксидаза [22].

Для диагностики пищевой аллергии *in vivo* применяется кожный прик-тест. Он является надежным методом диагностики IgE-опосредованного аллергического заболевания у пациентов с риноконъюнктивитом, астмой, пищевой аллергией и др. Тест минимально инвазивен, не дорогой, при его проведении результаты доступны в течение короткого времени и легко воспроизводимы квалифицированным медицинским персоналом.

В настоящее время кожный прик-тест может выполняться с различными экстрактами аллергенов либо с натуральными свежими продуктами (прик-прик тест). Однако тесты с коммерческими экстрактами могут быть отрицательными у сенсibilизированных людей или пациентов с аллергическим заболеванием из-за снижения их биологической активности в процессе производства, в основном за счет гомогенизации, экстракции и фильтрации [23, 24]. Нередки и ложноположительные результаты тестов, обусловленные

входящими в их состав консервантами (фенол и др.). Поэтому более стандартным является использование свежих продуктов.

Техника проведения прик-прик теста проста: после прокалывания фрукта с помощью ланцета, сразу этим же ланцетом прокалывают саму кожу, а оценку результатов проводят аналогично кожным пробам. Таким образом использование нативных аллергенов позволяет оценить реальную аллергическую реакцию с наиболее полноценными по белковому составу аллергенами.

Целью исследования явилась диагностика аллергии на яблоки путем оценки ПАРЖ после орально-фарингеального теста со свежеприготовленным яблочным соком и прик-прик теста.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе аллергологического отделения «ВОКБ» и кафедры клинической иммунологии и аллергологии «ВГМУ». Исследование одобрено Комитетом по этике.

Каждый участник перед исследованием давал информированное согласие и заполнял опросник по пищевой аллергии с отметкой отягощенной наследственности по аллергии, наличию различных аллергических реакций в анамнезе (на бытовые/эпидермальные/пыльцевые/лекарственные аллергены).

В ходе работы обследовано 55 человек (табл. 1). Исследуемую группу составили 27 пациентов с хроническими аллергическими заболеваниями вне обострения - контролируемая бронхиальная астма, аллергическая форма, легкое интермиттирующее/персистирующее течение, аллергический круглогичный и/или сезонный ринит, поллиноз с клиникой риноконъюнктивального синдрома.

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика обследованных

Показатели	Исследуемая группа (n=27)	Контрольная группа (n=28)
Возраст, лет	33 (29,4;36,7)	26 (22,5;41,5)
Пол, мужчины/женщины	9/18	8/20
Бронхиальная астма	9/27*	0/28
Аллергический ринит	8/27*	0/28
Поллиноз с риноконъюнктивальным синдромом	10/27*	0/28
Отягощенный наследственный аллергоанамнез	9/27*	0/28
Положительные кожные скарификационные пробы с экстрактом из пыльцы березы висячей	27/27*	0/28

Примечание: данные представлены как Ме (25;75)

*p<0,05 – достоверность различия между группами

Диагноз был установлен при помощи стандартного аллергологического обследования (сбор жалоб и анамнеза, объективный осмотр, лабораторные и инструментальные методы обследования, включая кожные пробы и спирографию).

Все пациенты имели в анамнезе аллергические реакции на свежие яблоки и пыльцу березы. У всех пациентов были получены положительные скарификационные пробы с экстрактом из пыльцы березы висячей (Биомед, Москва). 28 человек (практически здоровые лица) составили контрольную группу.

Для орально-фарингеального теста использовался свежеприготовленный яблочный сок сорта Golden Delicious. Этот сорт был выбран с учетом максимального содержания в своем составе белка Mal d1 (12,18 μg белка в 1 г яблока), гомолога белка Bet v1 пыльцы березы, вызывающего СОА [25].

Для этого измельчали 50 г (из расчета веса для открытых пищевых провокационных тестов) [26] мякоти яблока вместе с кожурой, предварительно помыв его под горячей водой в течение 1-2 минут. Далее полученное содержимое отжимали и в полученном соке определяли концентрацию белка модифицированным методом Брэдфорда (с целью стандартизации теста).

Использовалась методика по Седмаку и Гросбергу [27]:

1. Приготовление реактива Брэдфорда: 60 мг красителя Кумасси G-250 растворяли в 100 мл 2,2% HCl, для получения 0,06% раствора.
2. Приготовление калибровочного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА): БСА разводили в 0,9% растворе натрия хлорида в следующих концентрациях: 0,156; 0,313; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 мг/мл.
3. Ход реакции: в лунки плоскодонного ИФА-планшета раскапывали по 50 мкл каждой

концентрации БСА. К содержимому лунок добавляли 200 мкл реактива Брэдфорда, ставили в темное место на 10 минут. Через 10 минут оценивали оптическую плотность содержимого лунок на спектрофотометре при длине волны 620 нм. В аналогичном количестве (50 мкл) исследовали приготовленный яблочный сок.

4. Контроль: к 50 мкл 0,9% раствора натрия хлорида добавляли 200 мкл реактива Брэдфорда. Примечание: оптическая плотность контроля не должна быть больше 0,2. Наиболее точные результаты были получены через 3 месяца после приготовления реактива Брэдфорда.

На основании полученных данных строили калибровочный график и высчитывали концентрацию белка в приготовленном яблочном соке при помощи уравнения (величина достоверности аппроксимации составила $R^2=0,9945$) (рис. 1).

Для определения минимальной действующей концентрации белка, приготовленный яблочный сок разводили в 10 мл 0,9% раствора натрия хлорида в 2-х концентрациях – 0,000011 мг и 0,0000519 мг/мл белка, что в перерасчете на стандартные единицы белкового азота составило 1 и 5 PNU/мл (соответственно). Такие минимальные концентрации были выбраны с учетом использования натурального яблочного сока, а не экстракта, чтобы предупредить развитие аллергических реакций.

Далее был проведен провокационный орально-фарингеальный тест 7 пациентам с обеими концентрациями. За 15 минут до провокации участники ополаскивали рот физиологическим раствором в течение 2 минут. В две микропробирки типа Эппендорф собиралось 2 мл ротовой жидкости натошак. Далее пациенты ополаскивали рот 10 мл раствора яблочного сока в концентрации 1 PNU/мл в течение 4 минут, через 20 минут повторно собирали аналогичное количество

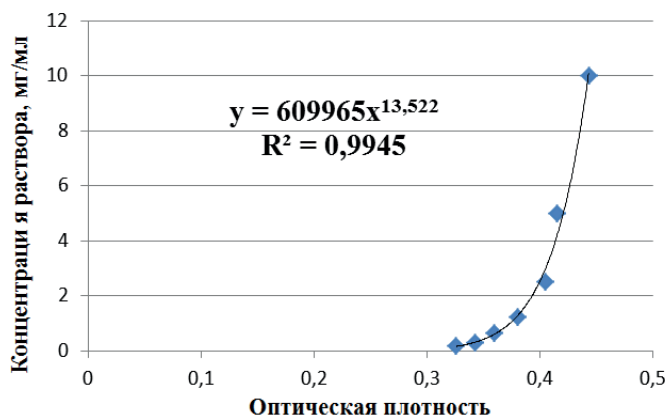


Рис. 1. Калибровочный график концентрации бычьего сывороточного альбумина в 0,9% растворе натрия хлорида

ротовой жидкости. Далее ополаскивали рот 10 мл раствора яблочного сока в концентрации 5 PNU/мл 4 минуты и через 20 минут повторно собирали ротовую жидкость в аналогичном количестве.

Собранную РЖ центрифугировали 10 мин при 8000 об/минуту и пропускали через нейлоновый фильтр. Критерием оценки был прирост уровня ПАРЖ, который определяли спектрофотометрически по ранее описанной методике с небольшой модификацией [19].

Диагностически значимый прирост уровня ПАРЖ наблюдался при провокации раствором яблочного сока в концентрации 5 PNU, средний прирост среди 7 человек составил 49,2%. Таким образом, далее все участники подверглись провокации с яблочным соком в данной концентрации. Повторный сбор слюны производился через 40 минут после полоскания.

Всем участникам выполнялся по разработанной нами методике прик-прик тест с зеленым яблоком Голден Делишес и красным яблоком Ред Принц. Учитывая различный антигенный состав кожуры и мякоти плода [1] уколы выполнялись отдельно в кожуру и мякоть, затем в кожу предплечья. В момент укола скарификатор удерживали в коже 10 секунд с последующим поворотом на 180°. Для теста использовался скарификатор с длиной иглы 1 мм с целью предупреждения повреждения кровеносных сосудов. Скарификатор был уколот в яблоки в течение 10 минут до постановки пробы. Ставились положительный и отрицательный контроли - с 0,01% раствором гистамина и тест-контрольной жидкостью, соответственно. Результат оценивали через 15 минут. Положительным считалось наличие волдыря ≥ 3 мм.

Исследование проводилось утром натощак, запрещалось чистить зубы. Антигистаминные

препараты отменялись за 3 дня, глюкокортикостероиды - за 2 недели до обследования.

Статистический анализ проводили в программах Statistica 10,0 и MS Excel. Значение показателей представлены в виде медианы с величиной интерквартильного размаха. Применялись критерии Вилкоксона, Стьюдента, тест Манна-Уитни при достоверности расчета $p < 0,05$. Для расчета порога отсека применялся ROC-анализ.

Результаты исследования и обсуждение

У 60% пациентов непереносимость яблок проявлялась жжением и покалыванием в области языка, губ и першением в горле, у 37% - зудом мягкого неба и язычка, 3% отмечали синдром постназального затекания (ощущение "стекания слизи" по задней стенке глотки). Данные проявления характерны для СОА, который является наиболее распространенным синдромом пищевой аллергии у людей, имеющих повышенную чувствительность и реактивность к яблокам.

75% участников отмечали появление вышеперечисленных симптомов через 5-10 минут после употребления в пищу яблок, 25% - через 20-30 минут, что говорит об аллергических реакциях немедленного типа.

После проведения орально-фарингеального теста с раствором сока яблока Голден Делишес (5 PNU/мл) у пациентов был обнаружен прирост уровня ПАРЖ, что явилось критерием подтверждения аллергии на яблоки. При оценке уровня ПАРЖ порог прироста после провокации составил 19% при оптимальных - чувствительности Se 70%, специфичности Sp 96% и диагностической точности AUC 0,84, $p < 0,05$ (ROC-анализ, рис. 2).

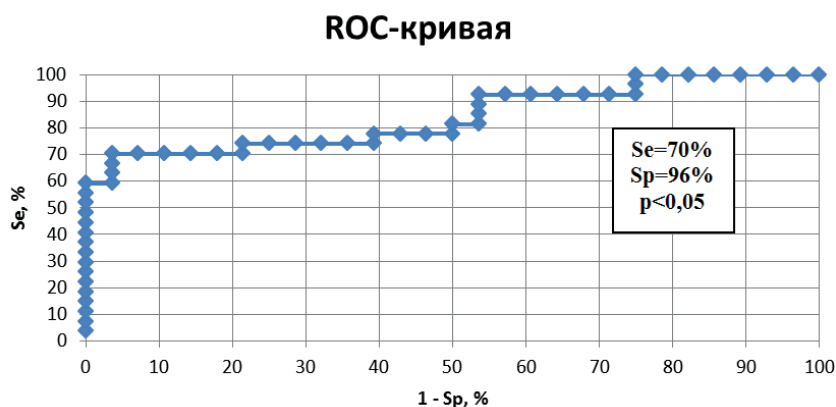


Рис. 2. ROC-анализ уровня прироста пероксидазной активности ротовой жидкости через 40 минут после провокации с яблочным соком

У 21 пациента (78%) с положительным прик-прик тестом наблюдался значимый прирост уровня ПАРЖ после орально-фарингеального теста с раствором яблочного сока по сравнению со здоровыми добровольцами с отрицательными кожными тестами ($p=0,000001$) (рис. 3, табл. 2).

Среди 22% (6/27) пациентов, у которых не было обнаружено достоверного прироста уровня ПАРЖ, 3 человека (50%-3/6) (с диагнозом atopическая бронхиальная астма) длительными курсами использовали ингаляционные глюкокортикостероиды (Селефлу, Серетид), 3 человека (50%-3/6) (с диагнозом поллиноз с клиникой риноконъюнктивального синдрома) неоднократно проходили специфическую иммунотерапию пылью березы.

Таким образом, отсутствие прироста уровня ПАРЖ, могло быть обусловлено снижением местной чувствительности клеток, в частности, нейтрофилов слизистой ротовой полости на фоне лечения глюкокортикостероидами либо десенсибилизацией организма после курсов специфической иммунотерапии.

В контрольной группе прирост уровня ПАРЖ +23,4 % был зарегистрирован у 1 человека (4%). У данного участника прик-прик тест с 2-мя сортами яблок был отрицателен, что говорит об

отсутствии сенсibilизации. Вероятно, прирост уровня ПАРЖ был обусловлен неспецифической дегрануляцией нейтрофилов слизистой оболочки полости рта под воздействием яблочного сока.

У 50% (14/28) здоровых добровольцев уровень ПАРЖ после провокации с раствором яблочного сока незначительно повышался (от +0,1% до +17,9%), но не достиг порога прироста, у второй половины - снижался (от -0,1% до -22,5%), что говорит о нормальной реакции на яблочный сок у здоровых людей.

Результаты прик-прик тестов с яблоками Голден Делишес и Ред Принц были положительны у 96% пациентов. Среди здоровых добровольцев положительных результатов кожного теста с яблоками не обнаружено. Мы учитывали отдельно площадь волдыря и гиперемии, а также их суммарный размер в мм² (табл. 3).

Достоверных различий между площадью волдыря и гиперемии при уколе в мякоть и кожуру яблок Голден Делишес получено не было ($p=0,28$), в отличие от яблока Ред Принц. Кожная реакция была более выражена на кожуру данного сорта, чем на мякоть ($p=0,038$) (табл. 4). Это могло быть обусловлено наличием в составе кожуры белка Mal d3 – липид-транспортного белка, отвечающего за развитие истинной пищевой аллергии на ябло-

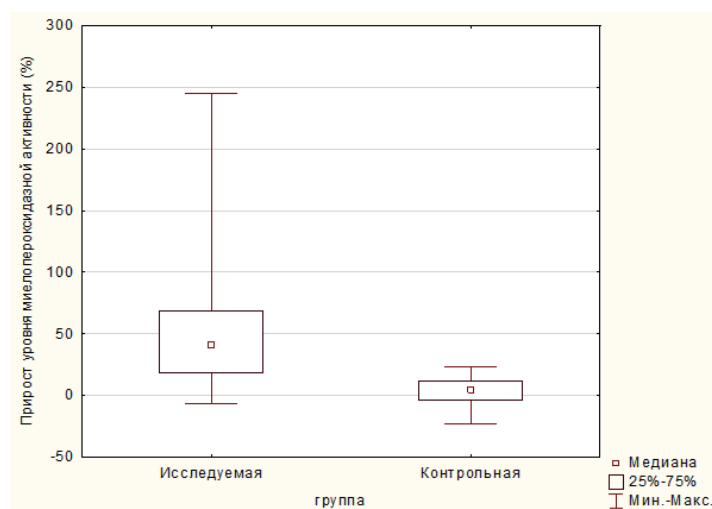


Рис. 3. Сравнение прироста уровня пероксидазной активности ротовой жидкости в исследуемой и контрольной группах после провокации

Таблица 2. Прирост уровня пероксидазной активности в ротовой жидкости после орально-фарингеального теста с яблочным соком

Аллерген	Исследуемая группа (n=27)	Контрольная группа (n=28)
Раствор яблочного сока (5 PNU/мл)	40,9 (18,9;69,1) %*	3,2 (-1,2;7,6) %

Примечание: данные представлены как Ме (25;75), М [-ДИ;+ДИ],

* $p<0,05$ – достоверность различия между группами

Таблица 3. Площадь кожных тестов (волдырь+гиперемия) и прирост уровня ПАРЖ у обследованных пациентов (n=27)

№	Площадь (мм ²) Голден Делишес (кожура)	Площадь (мм ²) Голден Делишес (мякоть)	Площадь (мм ²) Ред Принц (кожура)	Площадь (мм ²) Ред Принц (мякоть)	Площадь (мм ²) Гистамин	Прирост уровня ПАРЖ (%)
1.	678	333	578	534	349	5,3
2.	42	37	39	37	340	7,5
3.	112	110	210	215	312	35,3
4.	342	327	425	430	357	78,4
5.	265	257	285	274	322	18,9
6.	18	38	25	46	318	150,6
7.	15	11	25	35	282	38,5
8.	250	247	437	393	281	69,1
9.	180	147	356	362	287	53,9
10.	287	295	265	276	258	13,3
11.	87	91	120	98	509	40,9
12.	197	182	432	420	393	-0,5
13.	0	0	0	0	320	4,0
14.	256	277	590	556	429	-6,1
15.	205	197	405	390	250	38,2
16.	15	14	25	18	285	49,5
17.	20	20	15	15	245	245,3
18.	100	95	67	52	256	30,6
19.	150	190	110	95	302	22,0
20.	345	360	543	576	206	26,6
21.	540	532	520	515	150	56,5
22.	375	365	450	400	170	51,6
23.	296	290	510	505	210	45,9
24.	340	329	420	415	246	115,7
25.	345	341	470	465	305	23,2
26.	404	397	395	400	322	108,0
27.	502	496	602	597	297	95,8

Таблица 4. Площадь кожной реакции на мякоть и кожуру яблок Голден Делишес и Ред Принц в исследуемой группе (n=27)

Кожура (Голден Делишес)	Мякоть (Голден Делишес)	Кожура (Ред принц)	Мякоть (Ред Принц)
244,8 (174,6;315,0) мм ^{2*}	229,9 (169,8;290,1) мм ^{2*}	400,0 (110;470) мм ^{2*}	391,5 (95,6;465) мм ^{2*}

Примечание: данные представлены как Me (25;75)

*p<0,05 – достоверность различия

ки, без участия пыльцы березы как первичного сенсibilизатора [26]. Также по данным литературы в кожуре яблок содержание Mal d1 выше, чем в мякоти [1].

Площадь проб на кожуру (p=0,004) и мякоть (p=0,001) была достоверно больше на красные яблоки сорта Ред Принц, чем на зеленые Голден Делишес (табл. 4). Это говорит о более выраженной сенсibilизации к красному яблоку. Была выявлена корреляция между размерами волдыря

после скарификационных проб с аллергеном из пыльцы березы и прик-прик тестом с 2-мя сортами яблок ($r_1=0,71$, $r_2=0,69$). Таким образом, можно предположить, что тяжесть клинической реакции на яблоки связана со степенью сенсibilизации организма к пыльце березы, но это требует дальнейших исследований.

Побочных реакций и осложнений после проведения провокационного орально-фарингеального и кожных тестов не наблюдалось.

Оценка уровня ПАРЖ может использоваться в качестве биомаркера аллергической реакции у пациентов с пищевой аллергией на яблоки. Прик-прик и орально-фарингеальный тесты могут применяться совместно для диагностики аллергии на яблоки до явных признаков болезни с профилактической целью или при ее наличии. Данные тесты являются доступными, простыми в исполнении и легко интерпретируемыми.

Выводы

1. У 78% пациентов с непереносимостью яблок подтверждена гиперчувствительность к данному фрукту при помощи провокационного орально-фарингеального теста с оценкой уровня пероксидазной активности ротовой жидкости.
2. У пациентов с пищевой аллергией на яблоки прирост уровня пероксидазной активности ротовой жидкости после провокационного теста достоверно выше, чем у здоровых добровольцев ($p=0,000001$).

Литература

1. Чирик О.В., Ковзунова О.В., Решетников В.Н. Яблоки и аллергия – такой ли знакомый фрукт? М: Центральный ботанический сад НАН Беларуси. 2017: 76 с.
2. Kiewning D., Schmitz-Eiberger M. J. Effects of long-term storage on Mal d1 content of four apple cultivars with initial low Mal d1 content. *Sci Food Agric*. 2014; Vol. 94, №4: 798-802.
3. Helmi S.K., Berber J.V., Anthony E. J. Dubois Assessment of the Reduced Allergenic Properties of the Santana Apple. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007; Vol. 99, №6: 522-5.
4. Ahammer L. et al. Structure of the major apple allergen Mal d1. *J. Agric. Food Chem*. 2017; Vol. 65: 1606-1612.
5. Popescu F. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J. Methodol*. 2015; Vol. 5, №2: 31-50.
6. Ortolani C. et al. IgE-mediated allergy from vegetable allergens. *Ann Allergy*. 1993; Vol. 71: 470-6.
7. Wong Y. et al. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2016; Vol. 16, №12: 751-765.
8. Smole U. Bet v 1 and its homologous food allergen Api g 1 stimulate dendritic cells from birch pollen-allergic individuals to induce different Th-cell polarization. *Allergy*. 2010; Vol. 65, №11:1388-96.
9. Vieths S., Sicherer S., Ballmer-Weber B. Current understanding of Cross-reactivity of Food Allergens and Pollen. *Annals of the New York Academy of Science*. 2002; Vol. 964: 47-68.
10. Konstantinou G.N., Grattan C.E. Food contact hypersensitivity syndrome: the mucosal contact urticaria paradigm. *Clin. Exp. Dermatol*. 2008; №33: 383-389.
11. Ma S., Sicherer S.C., Nowark-Wegrzyn A. A survey on the management of pollen-food allergy syndrome in allergy practices. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; Vol. 112: 784-8.
12. Hofmann A., Burks W.A. Pollen food syndrome: update on the allergens. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2008; Vol. 8: 413-7.

3. При помощи прик-прик теста со свежими яблоками сортов Голден Делишес и Ред Принц выявлена сенсibilизация у 96% пациентов с синдромом оральной аллергии на яблоки. Сенсibilизация к красному яблоку Ред Принц более выражена, чем к зеленому Голден Делишес.
4. Повышение уровня активности пероксидазы ротовой жидкости в сочетании с положительным прик-прик тестом было обнаружено у большинства пациентов с пищевой аллергией на яблоки.
5. Прик-прик тест со свежими яблоками является простым и доступным методом. Прокол кожи выполняется на одинаковую глубину и не приводит к повреждению кровеносных сосудов, что уменьшает риск развития анафилактических реакций. Прик-прик тест может использоваться совместно с орально-фарингеальным тестом для диагностики аллергии на яблоки.

13. Flinterman A.E. et al. Hazelnut allergy: from pollen-associated mild allergy to severe anaphylactic reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008; Vol. 8: 261-5.
14. Cuesta-Herranz J. et al. Allergy to plant-derived fresh foods in a birch- and ragweed-free area. *Clin Exp Allergy*. 2000; Vol. 30: 1411-6.
15. Cuesta-Herranz J. et al. Differences among pollen-allergic patients with and without plant food allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; Vol. 153: 182-92.
16. Cantani A. *Pediatric Allergy, Asthma and Immunology*. Springer. 2008: 706-708.
17. Watson R. et al. European agency rejects links between hyperactivity and food additives. *BMJ*. 2008; Vol. 336, №7646: 687.
18. Новиков Д.К., Новиков П.Д., Титова Н.Д. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Вышэйшая школа. 2019: 448 с.
19. Аляхнович Н.С., Янченко В.В., Новиков Д.К. Метод диагностики аллергии на пищевые красители по увеличению пероксидазной активности в слюне. *Имунопатол., алергол., инфектол*. 2015; № 3: 108-114.
20. Leavey P.J. et al. In vivo treatment with granulocyte colony-stimulating factor results in divergent effects on neutrophil functions measured in vitro. *Blood*. 1998; 11: 4366-4374.
21. Новиков Д.К., и др. Новые методы диагностики и иммунотерапии аллергии. *Аллергология и иммунология*. 2015; Т.16, №4: 335-339.
22. Новиков П.Д., Новиков Д.К. Диагностика аллергии в реакции выброса миелопероксидазы под влиянием аллергена. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2002; №3: 63-69.
23. Heinzerling L.M. et al. GA2LEN skin test study I: GA²LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*. 2009; Vol. 64, №10: 1498-1506.

24. Burbach G.J. et al. GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy*. 2009; Vol. 64 №10: 1507-1515.

25. Marzban G. et al. Localization and distribution of the major allergens in apple fruits. *Plant Science*. 2005; Vol. 169, №2: 387-394.

26. Ebisawa M. et al. Japanese guidelines for food allergy 2017. *Allergology International*. 2017: 1-17.

27. Шишкин С.С. Использование связывания красителей для количественного определения содержания белка в растворах (обзор). *Вопросы медицинской химии*. 1982: 134-141.

Сведения об авторе:

Мацко Елена Францевна – аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК «УО» ВГМУ 210602 Витебск, пр. Фрунзе, 27. тел. (0212) 57-53-80.

Поступила 16.04.2020 г.