

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР (МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ) ГОСУДАРСТВЕННОГО НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ИНСТИТУТА ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЫ
МО РФ**

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ ТОЧНОЙ МЕХАНИКИ И
ОПТИКИ**

ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. акад. И.П.ПАВЛОВА**

**ДИАГНОСТИКА ЭТИОЛОГИИ АЛЛЕРГИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ
ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ (ГРВ)**

2005 г.
АННОТАЦИЯ

В пособии представлены анализ данных специальной литературы и материалы собственных исследований, обосновывающие перспективность ГРВ-графии как одного из методов этиологической диагностики аллергии.

Пособие предназначено для специалистов-аллергологов.

Организации – разработчики: НИИЦ МБЗ ГНИИИВМ МО РФ¹, ВМедА², СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова³, СПбГИТМО⁴.

Авторы: Ахметели Г.Г.⁴ – кандидат медицинских наук;
Болдырева Ю.С.² – кандидат медицинских наук;
Комиссаров Н.В.¹ – кандидат медицинских наук;
Короткина С.А.⁴;
Крыжановский Э.В.⁴ – кандидат физико-математических наук;
Лобкова О.С.² – доктор медицинских наук;
Михальцова Е.Н.²;
Свиридов Л.П.¹ – доктор медицинских наук профессор;
Сесь Т.П.³ – доктор биологических наук профессор;
Степанов А.В.¹ – доктор медицинских наук.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ.....	6
1.1. Физические основы метода.....	6
1.2. Применение ГРВ-графии для исследования жидкостей.....	6
1.3. Методика и приборное обеспечение ГРВ-графии.....	7
2. ОСНОВНЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.....	10
2.1. Краткая характеристика клеток крови – участников аллергических реакций.....	10
2.2. Стадии развития аллергии.....	14
2.3. Типы аллергических реакций.....	15
3. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНИМОСТИ ГРВ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИИ АЛЛЕРГИИ.....	18
4. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО АЛЛЕРГЕНА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИБОРНОГО КОМПЛЕКСА «ГРВ-КАМЕРА».....	21
5. АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГРВ-ГРАФИИ.....	24
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	25
ЛИТЕРАТУРА.....	26

ВВЕДЕНИЕ

В связи с высокой распространенностью аллергий проблема этих заболеваний в последние годы приобрела особую актуальность. Уже в течение нескольких десятилетий отмечается неуклонный рост их числа. Как свидетельствуют многие публикации, в настоящее время этим недугом страдает, по меньшей мере, каждый третий-четвертый житель планеты [Ильина Н.И., Польер С.А., 2001; Федосеев Г.Б., 2001; Хаитов Р.М., 2002]. Не случайно в аллергологию введено такое понятие, как «эпидемиология аллергий», что подразумевает скорость и широту охвата новых контингентов сопоставимо с эпидемиями инфекций [Ильина Н.И., 2004]. Сложившаяся ситуация вполне обоснованно вызывает тревогу и диктует необходимость разработки **действенных** мер профилактики и изыскания более совершенных средств и методов диагностики и лечения аллергий.

В перечисленном ряду направлений научного поиска одно из приоритетных мест занимает совершенствование диагностики, поскольку знание причины заболевания позволяет своевременно определить оптимальную тактику комплексного лечения, предусматривающего использование не только фармакологических препаратов общего действия, но, что особенно важно, и специфических средств по отношению к конкретному этиологически значимому аллергену. Примат в этом процессе принадлежит лабораторным методам установления сенсibilизирующего агента, так как даже тщательно собранный аллергологический анамнез заболевания позволяет лишь предположительно определить его [Пыцкий В.И., Андрианова Н.В., Артомосова А.В., 1991; Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В., 1999; Федосеев Г.Б., 2001].

Несмотря на многочисленные исследования, связанные с усовершенствованием методов определения природы причинно значимого фактора, лабораторная диагностика пока не в полной мере отвечает предъявляемым к ней требованиям. Без преувеличения можно утверждать, что к настоящему моменту абсолютно достоверные «пробирочные» тесты для этиологической диагностики аллергий отсутствуют. До сих пор в практике используют методы, каждый из которых характеризует только одно какое-то свойство клеток и выявляет аллергопатологию по изменениям лишь в отдельных звеньях иммунной системы без учета других отклонений из всей гаммы разворачивающихся в ней событий [Польнер А.А., Серова Т.И., Поспелова Р.А. и др., 1976; Новиков Д.К., Новикова В.И., 1979; Лобкова О.С., Митин Ю.А., 1993; Фрадкин В.А., 1990; Ганцева Х.Х., 1998]. К тому же эти методы нередко дают ложноположительные или отрицательные результаты даже при наличии весьма убедительных клинических признаков заболевания. Все это, безусловно, снижает эффективность и информативность лабораторного тестирования. Поэтому с целью повышения достоверности результатов лабораторную диагностику проводят комплексно, с применением

нескольких тестов. Такой подход, основанный на оценке возможно большего количества «болевых точек», безусловно, более результативен, но и гораздо более трудоемок и затратнее.

Что касается инвазивных проб (кожных, провокационных), то, наряду с достаточно высокой информативностью, они характеризуются выраженной реактогенностью и требуют осторожности, так как могут вызывать осложнения местного и общего характера и провоцировать весьма нежелательные обострения процесса.

Представленный краткий обобщенный анализ состояния проблемы, как представляется, указывает на актуальность поиска новых методов этиологической диагностики аллергий, с помощью которых стало бы возможным одномоментное выявление суммы если не всех, то многих изменений в реагировании крови *in vitro* на стандартные диагностические аллергены, то есть методов, позволяющих устанавливать гиперчувствительность к конкретному сенсибилизирующему фактору по интегральной оценке реакции на него иммуноглобулинов и форменных элементов крови.

С этих позиций наше внимание привлек метод газоразрядной визуализации (ГРВ), ~~основанный на эффекте Кирлиан~~. Его принцип состоит в компьютерной регистрации и анализе свечения жидкостей, в том числе и биологических, при эмиссии их молекул в электромагнитном поле высокого напряжения. Причем, как убедительно подтверждено экспериментально, характер этого свечения зависит от физико-химических свойств исследуемых растворов: изменение показателей их физико-химического состояния сказывается на эмиссионных свойствах объекта и, как следствие, картине ГРВ-грамм [Коротков К.Г., 2001; Крыжановский Э.В., 2001; Коротков К.Г., Струков Е.Ю., Широков Д.М., 2003; Свиридов Л.П., Степанов А.В., Комиссаров Н.В. и др., 2003, 2004].

Результаты сопоставления технических возможностей ГРВ-графии с иммунопатогенезом аллергий убедили нас в целесообразности применения этого метода для выявления этиологически значимых факторов у людей с этой патологией. В последующем высказанные предположения были подтверждены в **исследованиях** с применением специального программно-аппаратного обеспечения (комплекс «ГРВ-камера»), разработанного группой авторов под руководством профессора Короткова К.Г., итоги которых убедительно свидетельствовали о перспективности метода для указанного предназначения.

Цель настоящего пособия – ознакомить с идеологией ГРВ и на основе результатов собственных исследований обосновать применимость метода для этиологической диагностики аллергий.

Пособие предназначено для специалистов, практическая или научная деятельность которых в той или иной мере связана с проблемами аллергии.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

1.1. ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕТОДА ГРВ

Сущностью метода ГРВ-графии является изучение характеристик газового разряда, индуцируемого электронно-оптической эмиссией объекта, помещенного в электромагнитное поле (ЭМП) высокой напряженности. При этом характеристики газового разряда являются отражением как внутренних свойств самих исследуемых объектов, так и свойств внешней среды и электромагнитного поля.

Основной источник формирования изображения — это газовый разряд вблизи поверхности исследуемого объекта. Выделяют два основных типа разряда, связанных с формированием газоразрядных изображений (ГРВ-грамм): лавинный, развивающийся в ограниченном диэлектриком узком зазоре, и скользящий по поверхности диэлектрика.

Основная информация извлекается из характеристик излучения, которое представляет собой пространственно распределенную группу участков различной яркости [Коротков К.Г., 2001]. ГРВ-грамма представляет собой сложную двумерную фигуру (рис. 1). Каждый пиксель характеризуется своей яркостью, кодируемой целым числом в диапазоне от 0 («черное») до 255 («белое»).



Рис. 1. ГРВ-граммы однонормального раствора KNO_3 (слева) и дистиллированной воды (справа)

1.2. ПРИМЕНЕНИЕ ГРВ-ГРАФИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЖИДКОСТЕЙ

Методика исследования объектов методом ГРВ-графии заключается в получении, обработке и анализе газоразрядных изображений. В статической ГРВ-графии запись ведется в виде отдельных растровых изображений. В динамической ГРВ-графии анализируется последовательность газоразрядных изображений, получаемых в течение времени экспозиции. Цифровые видеосигналы записываются на жесткий диск компьютера в виде видеофайлов.

Динамическая ГРВ-графия обладает большей чувствительностью за счет измерения и анализа временных рядов параметров ГРВ свечения во времени. Это подтверждают результаты ряда работ по исследованию жидкостей. В частности, с целью выявления сравнения возможностей динамической и статической ГРВ-графии были проделаны следующие экспериментальные исследования. Вначале были исследованы растворы сильных электролитов, близких по химическим свойствам - полностью диссоциируемых растворителем на ионы, таких как NaCl, KCl, NaNO₃ и KNO₃ методом статической ГРВ-графии [Крыжановский Э.В., 2001; Korotkov K., Korotkin D., 2001]. Было показано, что при определенных концентрациях статистически значимые различия присутствуют между всеми жидкостями (например, для однонормальных растворов, а для некоторых отсутствуют, например, при концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ г-экв/моль). При этом была выявлена нелинейная зависимость третьего порядка концентраций растворов сильных электролитов от параметров изображений ГРВ.

Затем те же электролиты исследовались методом динамической ГРВ-графии. Было установлено, что динамический подход позволил установить различия во временных характеристиках проводящих жидкостей (различные концентрации сильных электролитов) при концентрациях, где статическая ГРВ-графия различий не выявляла [Коротков К.Г., Крыжановский Э.В., Короткина С.А., и др., 2003]. Установлено, что вплоть до 2^{-15} разведения различие между растворами электролитов и дистиллированной водой не пропадает.

Методов динамической ГРВ-графии было проведено исследование слабо проводящих жидкостей – ароматических масел различной природы [Korotkov K., Krizhanovsky E., Borisova M., Korotkin D. et.al., 2004]. Масла исследовались на возможность обнаружения различий при натуральном и синтетическом способе их получения, а также масел органического и регулярного происхождения; масел, полученных в разных климатических условиях и извлеченных различными способами; масел различной оптической активности; масел, свежих и окисленных различными способами. Из 60 пар масел, имеющих близкий химический состав, в 50 парах были выявлены статистически значимые различия по различным методам анализа. При анализе методом газовой хроматографии статистически значимые различия отсутствовали.

Проведение исследования как проводящих, так и слабо проводящих жидкостей показало, что этот метод позволяет выявлять статистически значимые различия при сравнении широкого спектра жидкостей. Различия проявляются в изменении вида характеристик (трендов, фрактальных параметров и др.) временных рядов параметров ГРВ изображений. Таким образом, обсуждаемый метод позволяет выявить свойства исследуемых объектов, которые «не видимы» для других методов физико-химического анализа.

1.3. МЕТОДИКА И ПРИБОРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ГРВ-ГРАФИИ

ГРВ-графию проводят с помощью программно-аппаратного комплекса «ГРВ-камера». Схема исследования для произвольного объекта изображена на рис. 2.

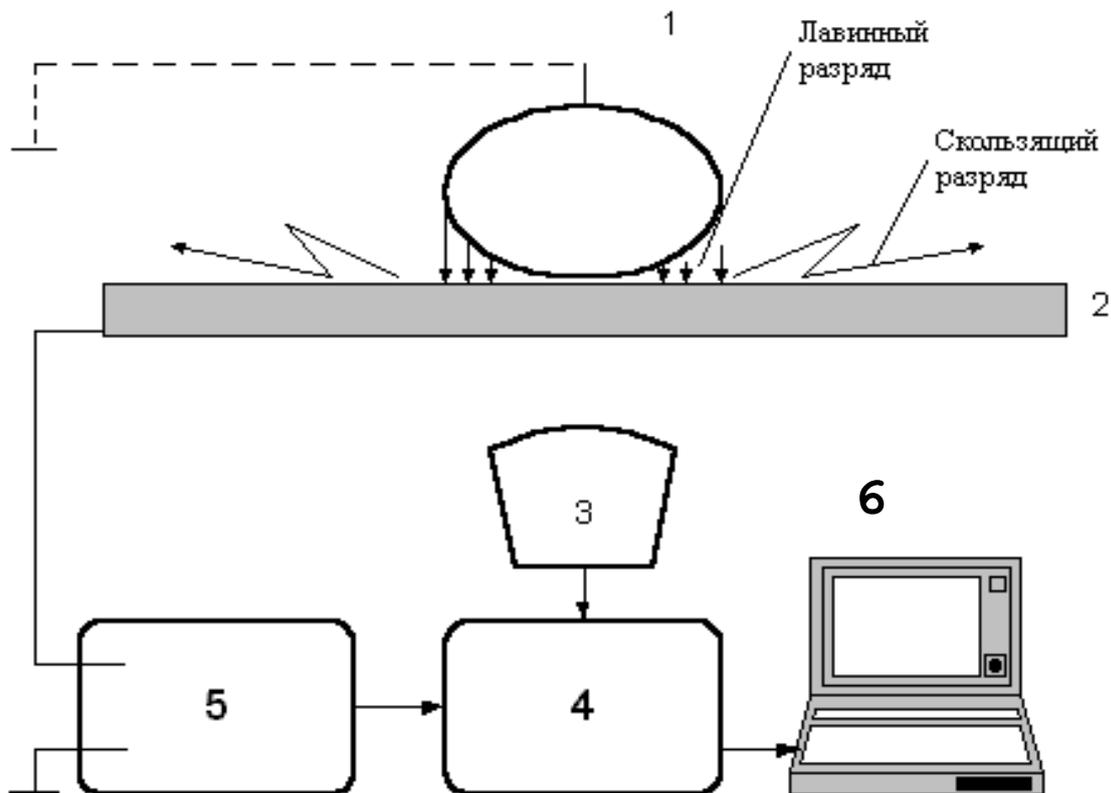


Рис. 2. Схематическое изображение устройства для исследования ГРВ характеристик исследуемого объекта и его эквивалентная схема: 1 – объект; 2 – прозрачный электрод; 3 – оптическая схема; 4 – видеопреобразователь; 5 – электронные блоки, генератор ЭМП; 6 – процессор обработки видеок кадров

Принцип формирования изображений заключается в следующем. Между исследуемым объектом 1 и диэлектрической пластиной 2, на которой размещается объект, подаются импульсы напряжения от генератора электромагнитного поля (ЭМП) 5, для чего на обратную сторону пластины 2 нанесено прозрачное токопроводящее покрытие. При высокой напряженности поля в газовой среде пространства контакта объекта 1 и пластины 2 развивается лавинный и/или скользящий газовый разряд, характеристики которого определяются свойствами объекта. Свечение разряда с помощью оптической системы и ПЗС-камеры 3 преобразуется в видеосигналы, которые записываются в виде одиночных кадров (ГРВ-грамм) или AVI-файлов в блок памяти 4, связанный с процессором обработки видеок кадров 6. Процессор обработки представляет собой специализирован-

ный программный комплекс, который позволяет вычислить комплекс параметров и на их основе делать определенные диагностические заключения [Коротков К.Г., 2001].

Для исследования жидкостей применяется специальное устройство, с помощью которого ~~нж~~ капля подвешивается над поверхностью экрана на расстоянии 3 мм (рис. 3).

Газовый разряд в данном программно-аппаратном комплексе образуется вокруг объекта под воздействием импульсов длительностью 10 мкс, подаваемых с частотой 1024 Гц и длительностью от 0.5 до 32 с. При этом регистрация ГРВ-грамм происходит в видимой области спектра.

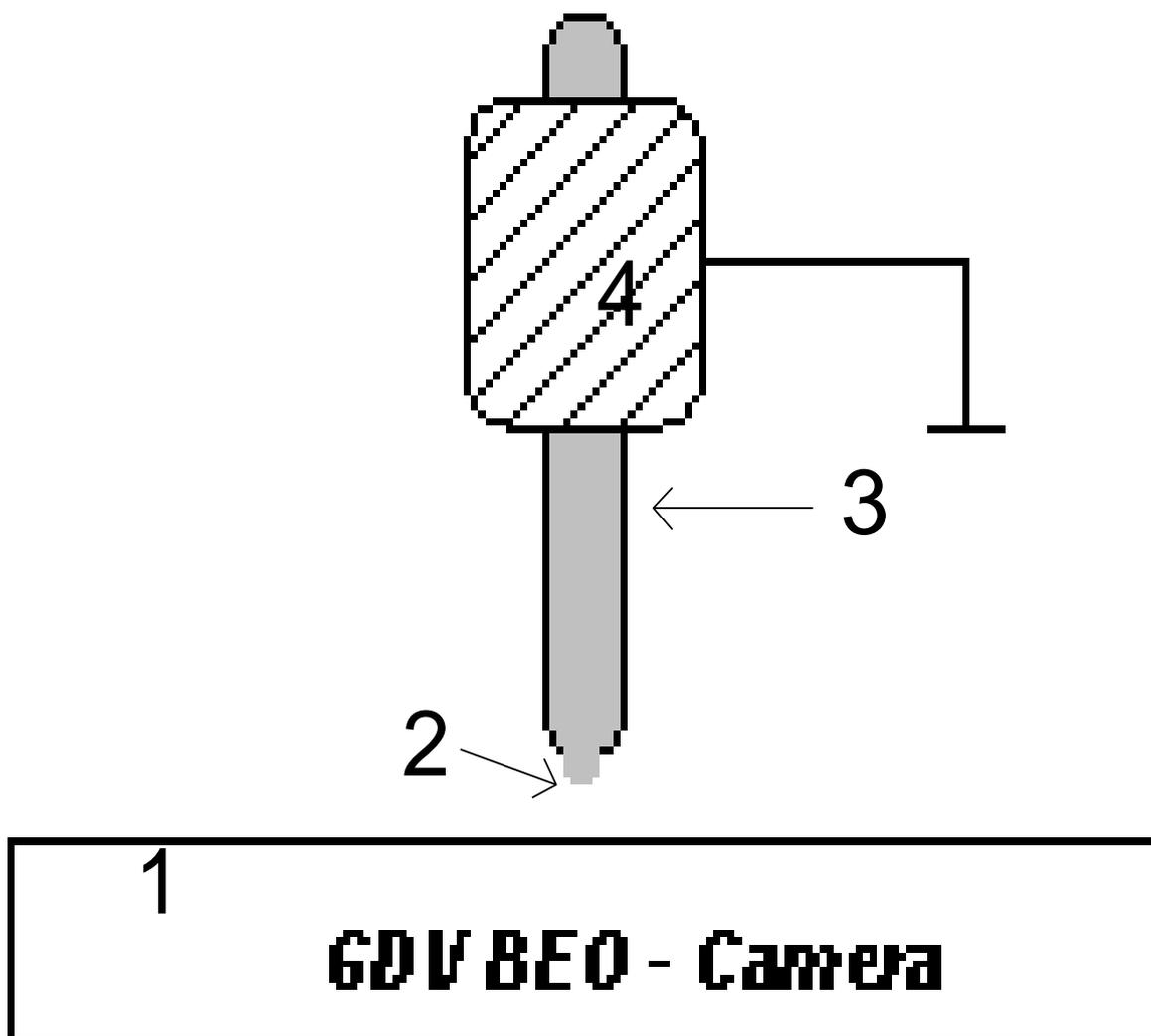


Рис. 3. Экспериментальная установка для измерения газоразрядных изображений жидкости: 1-окно прибора для исследования ГРВ объектов; 2-капля жидкости; 3-шприц; 4-заземление

2. ОСНОВНЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Термин «аллергия» был предложен Пирке для обозначения измененной способности организма реагировать на контакт с чужеродным веществом. Это достаточно широкое определение включает разные типы иммунологических реакций на антиген.

Общепринятой является классификация реакций гиперчувствительности с разделением их на четыре типа [Gill P., Coombs R., 1969]. Аллергические реакции первых трех типов опосредованы антителами – иммуноглобулинами разных классов: реакции I типа (гиперчувствительность немедленного типа – ГЧНТ) опосредованы IgE, реакции II и III типов опосредованы IgG и IgM. Продуктами антител являются активированные В-лимфоциты, но в индукции синтеза антител участвуют антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты) и соответствующая популяция Т-хелперов-Th2, продуцирующие и секретирующие цитокины (интерлейкины), необходимые для пролиферации, дифференцировки и активации В-лимфоцитов [Abbas A., Lichtman A., Roher J., 1991]. В эффекторную фазу аллергических реакций вовлекаются тучные клетки, базофилы, эозинофилы, нейтрофилы, эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки, тромбоциты. Одно из следствий активации этих клеток – синтез и секреция ряда провоспалительных цитокинов (интерлейкинов - 1 α , тумор-некротизирующего фактора – TNF, интерферонов – IFN).

Что касается аллергических реакций IV типа, то они опосредованы клетками и их продуктами – цитокинами. В индукции клеточного иммунного ответа участвуют антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки), субпопуляция Т-хелперов-Th1, продуцирующие и секретирующие цитокины (IFN γ , TNF, IL-2), необходимые для пролиферации, дифференцировки и активации Т-клеток – эффекторов, рекрутирования и активации макрофагов. В эффекторной фазе аллергических реакций IV типа – гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) участвуют Т-лимфоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, продуцируемые и секретируемые ими цитокины (Фрейдлин И.С., 2000).

Все упомянутые иммунокомпетентные клетки и продуцируемые ими биологически активные субстанции рассматриваются ниже в качестве участников аллергических реакций.

2.1. Краткая характеристика клеток – участников аллергических реакций

Лимфоциты – единственные клетки организма, специфически распознающие собственные и чужеродные антигены и отвечающие активацией на контакт с определенным антигеном. При весьма сходной морфологии малые лимфоциты делятся на две популяции, имеющие различные функции и продуцирующие разные белки – В-лимфоциты и Т-лимфоциты.

В-лимфоциты распознают антигены специфическими рецепторами иммуноглобулиновой природы, которые по мере созревания экспрессируются на их мембранах. Взаимодействие антигена с такими рецепторами является сигналом активации В-лимфоцитов и их дифференцировки в плазматические клетки, активно продуцирующие и секретирующие специфические для данного антигена антитела - иммуноглобулины.

Т-лимфоциты гетерогенны по функциям и включают разные субпопуляции, среди которых наиболее отчетливо различаются Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты. В отличие от В-лимфоцитов, способных распознавать антигены в растворе и связывать белковые, полисахаридные и липополисахаридные растворимые антигены, Т-лимфоциты могут распознавать только короткие пептидные фрагменты белковых антигенов, презентированные на поверхности вспомогательных антигенпредставляющих клеток в комплексе с собственными антигенами главного комплекса гистосовместимости. Связывание антигена с антигенраспознающим рецептором индуцирует активацию Т-лимфоцитов, которая проявляется продукцией и секрецией цитокинов, усиливающих процессы пролиферации и дифференцировки самих Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и макрофагов.

Взаимодействием Т- и В-лимфоцитов обеспечивается специфический иммунный ответ. Т-лимфоциты выполняют центральную функцию специфического распознавания и связывания антигена, что ведет к их активации, пролиферации и дифференцировке в регуляторные или эффекторные Т-лимфоциты, участвующие далее во всех формах иммунного ответа. Главной функцией В-лимфоцитов также является специфическое распознавание антигена, которое ведет к их активации, пролиферации и дифференцировке в плазматические клетки – продуценты специфических антител – иммуноглобулинов, то есть к гуморальному иммунному ответу. В большинстве случаев В-лимфоциты для обеспечения гуморального иммунного ответа нуждаются в помощи Т-лимфоцитов. В реализации защитных и повреждающих (при аллергии в том числе) реакций специфического иммунного ответа участвуют кроме лимфоцитов фагоцитирующие клетки, естественные киллеры, эндотелиальные клетки. Взаимосвязи и взаимная регуляция всех этих клеток опосредованы цитокинами и поверхностными адгезионными и костимулирующими молекулами [Фрейдлин И.С., 1998].

Макрофаги (моноциты) входят в так называемую систему мононуклеарных фагоцитов, которая объединяет клетки, имеющие сходную морфологию, цитохимические и функциональные характеристики, общее происхождение, связанные общей кинетикой [Фрейдлин И.С., 1984]. Мононуклеарные фагоциты обеспечивают неспецифическую антибактериальную защиту организма

не только за счет фагоцитарной функции. Секретируемые ими ранние провоспалительные, а затем противовоспалительные цитокины контролируют первую линию обороны организма от инфекций, обеспечивая рекрутирование и активацию не только макрофагов, но и других защитных клеток. Макрофаги обеспечивают элиминацию внеклеточных бактерий, гибель внутриклеточных бактерий, презентацию бактериальных антигенных пептидов Т-клеткам, преимущественную дифференцировку Th0 в Th1, ответственных за клеточный специфический иммунный ответ. Участие макрофагов в эффекторной фазе специфического иммунного ответа проявляется их мобилизацией в очаг иммунного воспаления и активацией с повышением их микробицидности и цитотоксичности под влиянием лимфоцитарных продуктов, в частности IFN γ . Такие активированные макрофаги выполняют функции основных эффекторных клеток в реакциях гиперчувствительности замедленного типа. Макрофаги также принимают участие в эффекторной фазе гуморального иммунного ответа, захватывая и убивая патогенные бактерии, опсонизированные специфическими антителами и комплементом. Для этого на мембране макрофагов экспрессированы специальные рецепторы для иммуноглобулинов и комплемента [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2000].

Нейтрофилы – это наиболее объемная популяция лейкоцитов. В отсутствие воспалительного процесса нейтрофилы в основном находятся в кровеносном русле, где они составляют большую часть циркулирующих лейкоцитов. Однако в ответ на внешний стимул происходит быстрое и часто массивное перераспределение нейтрофилов в поврежденные ткани. После выхода из кровотока нейтрофилы, находясь под воздействием стимулов, выделяют различные секреторные продукты, способные взаимодействовать как микроорганизмами, так и с клетками тканей.

Факторы секреции преимущественно накапливаются в лизосомных гранулах. После активации нейтрофилов гранулы перемещаются к мембране, и слияние с ней инициирует экзоцитоз, в результате которого содержимое гранул выходит в межклеточную жидкость.

Помимо этих продуктов нейтрофилы в результате респираторного взрыва высвобождают значительное количество метаболитов кислорода, включая супероксид, перекись водорода, гидрохлорид, гидроксильный радикал. В азурофильных гранулах эти клетки содержат большое количество миелопероксидазы и, используя Cl⁻ в качестве субстрата, выделяют НОС1.

Азурофильные гранулы содержат большое количество сериновых протеаз, эластаз и некоторые другие ферменты.

Основной функцией нейтрофилов является борьба с микроорганизмами путем их фагоцитоза. Однако, локализуясь в очаге аллергического воспаления, они, наряду с эозинофилами и другими клетками, принимают активное участие в поздней фазе аллергической реакции.

Высвобождение преформированных биологически активных веществ (дегрануляция) составляет важнейший этап реализации эффекторного потенциала зрелого нейтрофила. Дегрануля-

ция наблюдается не только во время фагоцитоза гранулярных объектов, но также является результатом чрезмерной активации.

Нейтрофилы играют определенную роль в развитии аллергических состояний: протеолитические медиаторы могут действовать на окружающие ткани и, таким образом, вовлекаются в патогенез различных аллергических заболеваний.

Эозинофилы содержат множество энзимов и катионных белков с высокой биологической активностью, синтезированных заранее и хранящихся в цитоплазматических гранулах. Это липиды (лейкотриены, простагландины и др.), метаболиты кислорода, цитокины (интерлейкины, эотаксины и др.), ферменты, нейропептиды и прочие белки.

Эозинофилы, как и нейтрофилы, являются конечными эффекторными клетками воспаления.

Ответ эозинофилов на стимуляцию активацией респираторного взрыва приводит к генерированию токсических кислородных радикалов: O_2^- , H_2O_2 , O_2 , OH^\cdot . На большинство стимуляторов выраженность респираторного взрыва в эозинофилах больше, чем в нейтрофилах.

Эозинофилы участвуют в реакциях воспаления, находясь в постоянном взаимодействии с другими клетками.

Весьма существенна роль эозинофилов в развитии аллергии. Воспалительная реакция с их участием инициируется экзогенными антигенами.

Базофилы, как правило, функционируют, находясь в крови. Локализуются в тканях при особых обстоятельствах. Близкие к ним функционально тучные клетки в основном функционируют в виде оседлых клеток: в кровеносных сосудах, лимфатической и соединительной тканях.

Базофилы периферической крови содержат многочисленные гранулы. Связывание IgE с базофилом приводит к его активации, движению гранул к мембране клетки и последующей дегрануляции.

Базофилы экспрессируют большой спектр поверхностных антигенов и рецепторов, часть которых появляется лишь при активации клеток.

Ключевым является высокоаффинный рецептор для IgE, присутствие которого определяет способность базофилов принимать участие в реакциях, опосредованных иммуноглобулинами IgE-класса.

Специфическая реакция антиген-антитело стимулирует синтез высокоактивных биологических веществ. Их выделение – это активный, требующий энергетических затрат, процесс. Основными растворимыми факторами и медиаторами, продуцируемыми базофилами, являются липиды, ферменты, цитокины и другие вещества. Помимо предсуществующих медиаторов из активированных клеток высвобождаются продукты, образующиеся в ходе их активации, которые выполняют роль посредников аллергических реакций [Schwartz L.B., 1988, 1987].

Попадание в организм аллергенов приводит к развитию патологических аллергических реакций, при которых дегрануляция базофилов носит ярко выраженный патологический характер и определяет основной симптомокомплекс заболевания.

Таким образом, реакция базофилов (тучных клеток) занимает ведущее место в ответе иммунной системы на генетически чужеродные факторы. Если эта реакция выходит за пределы адекватности, то она принимает патологический характер – формируется гиперчувствительность немедленного типа.

Тромбоциты имеют много черт, характерных для классических клеток воспаления. Представляют собой богатый источник биологически активных веществ, которые индуцируют или усиливают воспалительную реакцию. Часть этих веществ преисшествуют, а некоторые образуются вновь в ходе активации этих форменных элементов крови. Имеются доказательства участия тромбоцитов в аллергических реакциях: многочисленные исследования свидетельствуют об их активации в ходе аллергической реакции.

Исходя из задачи настоящего пособия – ознакомить с новым лабораторным методом диагностики аллергии, основанным на выявлении особенностей реагирования крови на этиологически значимый аллерген путем визуализации происходящих в ней процессов, - характеристику иммунологических механизмов аллергических реакций ограничиваем изложенными данными, раскрывающими лишь роль клеток крови и их продуктов взаимодействия в формировании повышенной чувствительности к аллергенам. Вместе с этим понимаем, что в указанных процессах на организменном уровне активно участвуют и некоторые тканевые клетки – тучные, эпителиальные, дендритные, эндотелиальные и другие, которые функционируют в комплексе с уже описанными другими клетками и их продуктами, выполняя важные функции в реакциях защитного и аллергического характера. Однако, поскольку они не имеют значения для построения схемы разработанного нами анализа *in vitro* с применением ГРВ-графии, их характеристику опускаем.

2.2. Стадии развития аллергии

Попадание в организм аллергена вызывает его сенсibilизацию. Сенсibilизация – это иммунологически опосредованное повышение чувствительности организма к антигенам (аллергенам) экзогенного или эндогенного происхождения. Термин широко используется, однако смысл, вкладываемый в него, неоднороден. Иногда сенсibilизацию определяют очень широко – как повышенную реакцию организма на вещества антигенной или гаптенной природы. В этом случае понятие сенсibilизации сливается с понятием аллергии. Однако аллергия включает не только повышение чувствительности к какому-либо аллергену, но и реализацию этой повышенной чувствительности в виде аллергической реакции. Вначале повышается чувствительность к антигену, а за

тем, если антиген остается в организме или попадает в него вновь, развивается аллергическая реакция. Этот процесс может быть разделен во времени на две составляющие части: 1 – подготовка, повышение чувствительности организма к антигену, или, иначе, сенсibilизация, 2 – реализация этого состояния в виде аллергической реакции. Такое представление соответствует клиническим наблюдениям. Очень часто сенсibilизированный человек является практически здоровым до тех пор, пока в его организм не попадает аллерген (домашняя пыль, пыльца растений и др.). Это подтверждено экспериментально. Например, для воспроизведения анафилактического шока у морских свинок им сначала вводят так называемую сенсibilизирующую дозу антигена, который через 2-3 недели вызывает формирование гиперчувствительности, выявляемой путем введения разрешающей дозы того же антигена (вызывает шок). В связи с этим более правильно рассматривать сенсibilизацию как процесс формирования в организме повышенной чувствительности с момента введения антигена до образования антител и/или сенсibilизированных лимфоцитов к данному антигену. А.Д. Адо (1970) выделил три стадии аллергических реакций. Иммунологическая стадия охватывает все изменения в иммунной системе, возникающие с момента поступления аллергена в организм до образования антител и/или сенсibilизированных лимфоцитов и соединения их с повторно поступившим или персистирующим в организме аллергеном. Цитохимическая стадия или стадия образования медиаторов заключается в образовании биологически активных медиаторов в результате соединения аллергена с антителами или сенсibilизированными лимфоцитами в конце иммунологической стадии. Патофизиологическая стадия или стадия клинических проявлений характеризуется патогенным действием образовавшихся медиаторов через рецепторы на клетки и ткани организма и возникновением симптомов гиперчувствительности. Как уже указывалось, в основе развития аллергических процессов лежат иммунные механизмы, морфологическим субстратом которых являются лимфоидные органы и скопления лимфоидных клеток. Центральной фигурой иммунной системы является лимфоцит.

Взаимодействие между клетками иммунной системы осуществляется двумя путями: прямым контактом или через секретируемые медиаторы. Последние соединяются со своими рецепторами на эффекторных клетках и тем самым активируют или тормозят соответствующие процессы в них. Каждый медиатор имеет свое название. Так, например, таковыми медиаторами являются интерлейкины. К настоящему времени их выделено 18 видов, которые играют важную роль в созревании и пролиферации различных субпопуляций лимфоцитов и других клеток.

2.3. Типы аллергических реакций

Согласно классификации Gell и Coombs (1975), существует 4 типа реакций гиперчувствительности.

Тип I – гиперчувствительность немедленного типа (ГЧНТ) или анафилактического (атопического) типа. Иммунологический процесс такого типа обусловлен специфическими антителами IgE класса (реагинами) против причинного аллергена. При взаимодействии иммуноглобулинов с аллергенами клетки продуцируют медиаторы, которые при действии на ткани вызывают развитие клинических симптомов заболевания. К настоящему времени получены убедительные данные о связи atopических заболеваний с доминированием Th2-ответа на аллергены. В условиях *in vitro* Т-лимфоциты больных atopиями отвечают на контакт с причинным аллергеном экспансией Т-хелперов с превалирующим Th2-цитокиновым профилем, в отличие от типового ответа, для которого характерна пролиферация специфических Th1-лимфоцитов здоровых лиц.

У больных хроническими аллергическими заболеваниями (атопическим дерматитом, atopической бронхиальной астмой) наблюдается недостаточность клеточного иммунитета: снижение реакции ГЗТ, снижение синтеза IFN γ на фоне гиперпродукции IL-4,10. Мононуклеары крови таких больных дефектны по продукции IFN γ при нормальной продукции IL-12.

К заболеваниям этого типа относятся аллергическая бронхиальная астма, поллиноз, аллергический ринит и конъюнктивит, atopический дерматит, крапивница, а также анафилаксия.

Тип II – цитотоксические иммунные реакции, индуцируемые комплексом антиген/антитела: аллерген фиксируется на поверхности клеточной мембраны, соединяясь с IgG или IgM рецепторами. Повреждение клеток происходит за счет активации комплемента, фагоцитоза клеток, покрытых антителами, антителозависимой клеточной цитотоксичности (через образование антител к рецепторам клетки).

Медиаторами патохимической стадии этого типа аллергических реакций являются компоненты комплемента, в процессе активации которых образуются продукты, обладающие выраженными биологическими эффектами, ответственными за развитие аллергического воспаления. Определенную роль в развитии указанной реакции играет образование супероксидных анионрадикалов нейтрофилами, моноцитами и эозинофилами.

Примером аллергии II типа являются иммунная гемолитическая анемия, лекарственные цитопении.

Тип III – иммунокомплексные аллергические реакции, индуцируемые иммунными комплексами антиген/антитело. Попадающие в организм антигены высокой молекулярной массы инициируют образование антител IgG и IgM классов. Повреждающее действие иммунных комплексов реализуется через активацию комплемента, высвобождение лизосомных ферментов, генерацию супероксидного радикала, активацию кининовой системы.

Третий тип аллергических реакций является ведущим в развитии сывороточной болезни, экзогенных аллергических альвеолитов, системных и аутоаллергических заболеваний, лекарственной и пищевой аллергии и др.

Тип IV – гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Аллергические реакции этого типа обусловлены клеточными иммунными механизмами, в которые вовлекаются иммунокомпетентные клетки. Они принципиально сходны с механизмами клеточного иммунитета, но при аллергии развивается повреждение тканей, что отсутствует в норме (в случае защитной реакции).

В ответ на контакт с аллергеном происходит сенсibilизация Т-лимфоцитов. При повторном попадании в организм аллерген соединяется с сенсibilизированными лимфоцитами, что приводит к ряду морфологических, биохимических и функциональных изменений в них: происходит бласттрансформация, пролиферация, усиление синтеза ДНК и РНК, секреция различных медиаторов (цитокинов), которые мобилизуют другие клетки. Макрофаги фагоцитируют аллерген, обрабатывают его и представляют Т-хелперам. Одновременно макрофаги секретируют IL-1, стимулирующий Т-хелперы, а последние – IL-2, который активирует и поддерживает пролиферацию аллергенстимулированных Т-клеток.

В патохимическую стадию основными медиаторами аллергических реакций IV типа становятся цитокины (фактор, активирующий миграцию макрофагов; интерлейкины, хемотаксические факторы, интерферон), которые представляют собой макромолекулярные вещества полипептидной или гликопротеидной природы, генерируемые в процессе взаимодействия Т- и В-лимфоцитов с аллергенами.

Аллергические реакции замедленного типа лежат в основе развития инфекционно-зависимых форм бронхиальной астмы, реакций отторжения чужеродного трансплантата, инфекционно-аллергических заболеваний (туберкулеза, лепры, бруцеллеза и др.), а также дерматитов, экзем.

3. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНИМОСТИ ГРВ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИИ АЛЛЕРГИИ

Известно, что аллергия – это приобретенная способность организма специфически реагировать на некоторые чужеродные вещества из внешней среды или на собственные измененные высокомолекулярные вещества или клетки. Как правило, такие заболевания являются следствием нарушений в иммунной системе, которая в этих случаях патологически реагирует на антигены, сами по себе обычно безвредные для организма. При этом включаются механизмы, срабатывающие и в случае нормальной защитной реакции на попавшие в организм чужеродные субстанции с целью их локализации и элиминации. Но патологические варианты реагирования, получившие название гиперчувствительность, сопровождаются, в отличие от нормы, повреждением органов и тканей, что дало основание расценивать их как болезнь аллергического характера [Ярилин А.А., 1978].

Иммунологически опосредованная гиперчувствительность организма к генетически чужеродным веществам возникает при повторном контакте с ними [Федосеев Г.Б., 2001]. Для этого состояния характерны специфичность (развивается в ответ лишь на определенные антигены-аллергены) и сенсibilизация организма (подготовленность к особому реагированию). Именно эти характерные и весьма важные патогенетические особенности заболевания использованы исследователями ранее при разработке методов диагностики аллергий.

В основе иммунологических аллергических реакций лежит связывание аллергена с антителами и взаимодействие с сенсibilизированными иммуноориентированными клетками. Кроме иммуноглобулинов Е, G, М-классов в разворачивании реакций принимают определенное участие антителозависимые и естественные киллеры, нейтрофилы, моноциты, базофилы, эозинофилы, тромбоциты, циркулирующие иммунные комплексы, цитокины и др. составляющие иммунной системы. Как уже было отмечено, аллергические реакции делят на 4 типа. Первые три опосредованы антителами – иммуноглобулинами разных классов. Реакции I типа опосредованы IgE, II и III типов – IgG и IgM, IV типа – клетками и их продуктами (цитокинами), выделяемыми сенсibilизированными лимфоцитами при повторном контакте с аллергеном.

Такое деление условно, так как нередко происходит развитие реакций нескольких типов: в анафилаксии реализуются механизмы I и III типов, при аутоиммунных заболеваниях – II и IV типов, при лекарственной аллергии – все четыре. Иными словами, в зависимости от свойств и химической структуры аллергенов наблюдается преобладание того или иного вида реакции или возникают реакции смешанного типа, но, подчеркнем особо, в них всегда в той или иной степени участвуют специфические антитела (иммуноглобулины различных классов) и активированные (сенсibilизированные) клетки, в том числе и клетки крови. Поэтому изучение морфологии и функции клеток и опосредующих их реакции цитокинов и антител, как правило, лежит в основе большин-

ства лабораторных методов диагностики аллергии, основной целью которых является установление этиологически значимого фактора. Для этих целей в настоящее время предложено множество иммунологических тестов, характеризующих клеточное и гуморальное звенья иммунной системы и сигнализирующих об усилении или недостаточности, сбоя или извращении в работе какого-либо конкретного звена иммунорегуляции, с которым связаны дисфункция иммунной системы и, как следствие, формирование аллергии. Широко применяют тесты, с помощью которых определяют в сыворотке крови больных уровень специфических антител к конкретным аллергенам. Получили распространение методы, предназначенные для оценки функции и структуры клеток, зеркала и уровня продуцируемых ими биологически активных веществ, задействованных в иммунологических реакциях. Из них признаны наиболее ценными те, которые выполняются *in vitro*, поскольку абсолютно безопасны для обследуемых пациентов. С их помощью определяют непрямую дегрануляцию базофилов (тест Шелли), бластную трансформацию лимфоцитов, показатель повреждения нейтрофилов, торможение миграции лейкоцитов, титр IgE антител, уровень цитокинов, иммунных комплексов, комплемента и целый ряд других показателей [Новиков Д.К., Новикова В.И., 1979; Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В., 1999; Фрадкин В.А., 1975 и др.]. Однако каждый из перечисленных показателей дает информацию лишь о каком-либо одном звене иммунной системы, не затрагивая другие отклонения из всей гаммы разворачивающихся в ней событий. К примеру, для тестирования функционирования субпопуляций лимфоцитов требуется один метод, а для определения уровня комплементарных аллергену антител IgE-класса – другие. В этом слабость используемых в настоящее время методов, объясняющая их недостаточную эффективность и информативность.

Учитывая многообразие нарушений в иммунной системе, лабораторную диагностику аллергий нередко стремятся проводить комплексно, путем применения нескольких тестов, которые, дополняя друг друга, информируют об аллергическом «настрое» организма к тому или иному фактору по совокупности данных, полученных в результате оценки клеточных и гуморальных механизмов. Такой подход, основанный на анализе возможно большего количества «болевых точек», безусловно, более результативен и объективнее, но гораздо более трудоемок и затратнее. Поэтому, как нам представлялось, необходим поиск методов, с помощью которых стало бы возможным одновременное выявление большего числа изменений в крови при контакте ее *in vitro* со стандартными диагностическими аллергенами, то есть методов, позволяющих косвенно устанавливать гиперчувствительность пациента к конкретному сенсibiliзирующему фактору по интегральному показателю, отражающему реакцию иммуноглобулинов и форменных элементов крови.

В качестве такого метода мы применили ГРВ, которая дает возможность оценить физико-химическое состояние жидкостей (водных растворов солей, масел, биологических жидкостей и

др.), представляя получаемую информацию в виде результирующей кривой на дисплее компьютера [Крыжановский Э.В., 2001; Korotkov K., Korotkin D., 2001 и др.].

При обосновании применимости этого метода для указанной цели мы опирались на известные данные о том, что в результате взаимодействия иммунокомпетентных клеток и специфических антител с аллергеном в крови происходит каскад взаимосвязанных процессов (взаимодействие антигена с антителом, фагоцитоз, секреция биологически активных веществ, повреждение мембран, дегрануляция базофилов и др.), которые, являясь энергозависимыми [Савицкая Ж.С., 2001], безусловно, повлекут изменение ее физико-химических характеристик и соответственно, - ГРВ-грамм. При этом реакция факторов крови сенсibilизированных индивидуумов на причинно значимый аллерген по силе и качеству будет иметь иной характер, чем на более «инертный» антиген, с которым макроорганизм ранее не встречался, а значит и динамика физико-химических свойств под их влиянием тоже будет разная.

Представленные в обобщенном виде технические возможности ГРВ и краткая характеристика иммунологических механизмов формирования аллергии послужили теоретической основой для разработки предлагаемой нами методики исследования крови с целью установления причины гиперсенсibilизации.

4. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО АЛЛЕРГЕНА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИБОРНОГО КОМПЛЕКСА «ГРВ-КАМЕРА»

В настоящем пособии представлен наиболее оптимальный вариант методики, выбранный при исследовании крови людей, страдающих аллергиями различного происхождения. Приводим последовательность и технику выполнения ее отдельных этапов.

Подготовка проб. Гепаринизированную кровь пациента разлить (0,25 мл) в 4 стерильные пробирки. В две из них (контрольные) внести по 0,05 мл разводящей жидкости, изготавливаемой производителями стандартных диагностических аллергенов (авторы применяли препараты производства ОАО «Биомед» им. И.И.Мечникова); в две другие (опытные) – добавить в том же объеме аллерген, который, по данным аллергологического анамнеза, может быть причиной заболевания. Количество опытных проб крови определяется количеством подозреваемых (по данным анамнеза) аллергенов (1 аллерген – 2 опытных пробы, 2 аллергена – 4 опытных пробы и т.д.). Затем пробы инкубируют: половину в течение 1,5 ч при 37 °С (в термостате), половину – 24 ч (1,5 ч в термостате, а затем при комнатной температуре). При этом, как мы полагаем, в результате взаимодействия причинно значимого аллергена с присутствующими в крови больного специфическими антителами и сенсibilизированными к нему клетками произойдет образование иммунных комплексов, повреждение мембран и распад форменных элементов, выход из них биологически активных веществ и др. процессы, что повлечет изменение физико-химических характеристик и, следовательно, эмиссионных свойств исследуемого образца крови в течение его экспозиции. На разводящую (контрольную) жидкость и на аллерген, не имеющий этиологического значения для данного больного, реакция крови будет менее выраженной. Эти различия в реагировании должны быть выявлены с помощью ГРВ-графии.

Техника ГРВ-графии. После экспозиции кровь (15 мкл) наносят дозатором на датчик прибора и производят запись показаний в течение 5 сек при режиме 1. Всего необходимо исследовать 10-12 капель. Информацию обрабатывают в соответствии с прилагаемой программой. Получают ГРВ-граммы, характеризующие площадь свечения, коэффициент формы, средний радиус изолинии, нормализованную СКО радиуса изолинии, длину изолинии, энтропию по изолинии, среднюю интенсивность. Результаты, полученные через 1,5 ч и 24 ч, обобщают и делают заключение.

В том случае, если пространственное расположение линий, получаемых при исследовании разводящей жидкости и подозреваемого аллергена хотя бы по одному из перечисленных критери-

ев достоверно отличаются, следует считать, что этот аллерген является причиной болезни данного пациента. При отсутствии достоверных различий в реагировании крови на разводящую жидкость и аллерген результат следует считать отрицательным, то есть данный аллерген не имеет этиологического значения.

Для демонстрации представляем ГРВ-грамму больного (таблица 1, проба № 3), аллергологический анамнез которого давал основание предполагать, что аллергия у него обусловлена белком куриного яйца.

Таблица 1

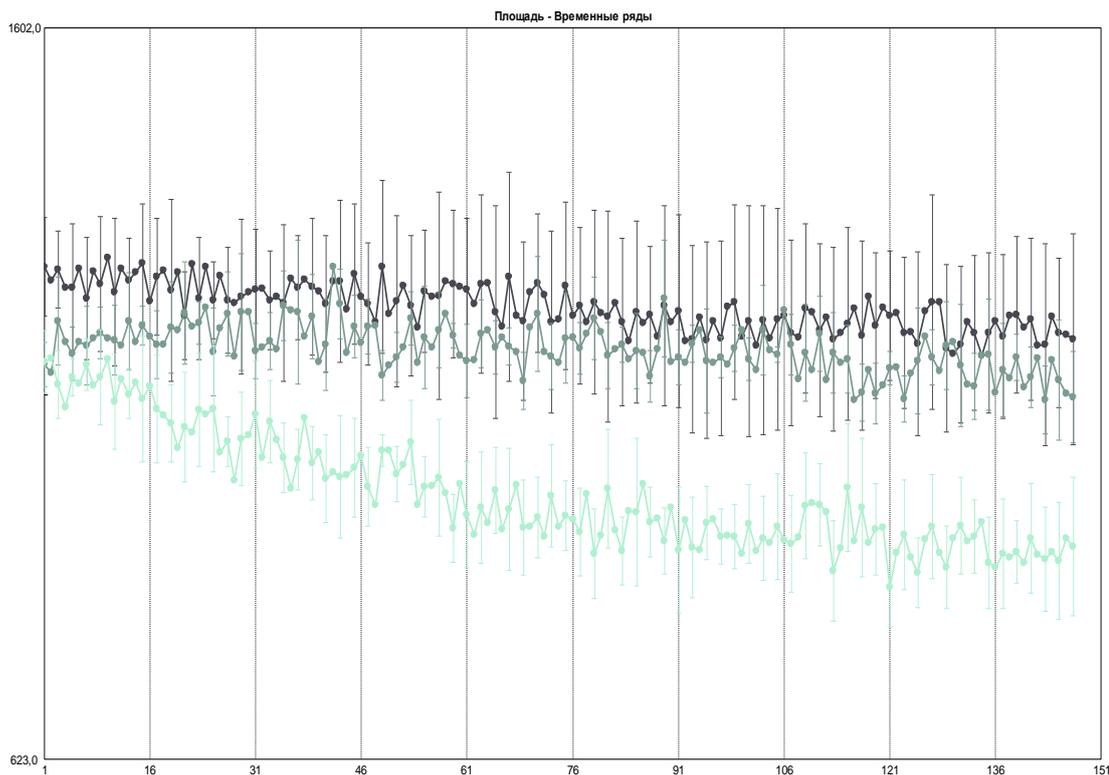
Результаты выявления этиологически значимых аллергенов с помощью газоразрядной визуализации (ГРВ) и общепринятых иммунологических тестов (ИТ)

№№ проб крови	Аллергены из									
	пера подушки		домашней пыли		клеща D.pteronissynus		белка куриных яиц		мяса утки	
	ГРВ	ИТ	ГРВ	ИТ	ГРВ	ИТ	ГРВ	ИТ	ГРВ	ИТ
1*			-	-			-	-	-	-
2*			-	-			-	-		
3*			-	-			+	+		
4*			-	-			+	+		
5*			-	-			+	+		
6**	+	+	+	+	+	-				
7**	+	+	+	+	+	+				
8**	+	+	+	+	+	+				
9**	-	-	-	-	+	+				
10**	+	-	+	+	+	+				
11**	+	-	-	-	-	-				
12**	+	+	+	-	+	-				
13**	-	-	-	-	+	-				
14**	-	-	-	+	+	+				
15**	-	-	+	+	+	+				
16**	-	-	-	-	+	+				
17**	-	-	+	-	+	+				
18**	-	+	-	-	+	+				
19**	-	-	+	-	+	+				
Количество проб в группах	14		19		14		5		1	
% совпадений	78		79		78		100		100	
Всего исследовано проб	53									
% совпадений	81									

Примечание: * – результаты ГРВ сравнивали с результатами РТМЛ; ** – результаты ГРВ сравнивали с результатами ИФА. Заштрихованные графы – совпадение результатов по выявлению этиологически значимых аллергенов с помощью ГРВ и общепринятых ИТ.

В связи с этим была оценена реакция крови на этот белок, на разводящую жидкость, а также (лишь для исследовательских целей) на заведомо отрицательный контроль – домашнюю пыль, на которую, по данным анамнеза, гиперчувствительность у больного отсутствовала. Оказалось (рисунок 4), что реакция на домашнюю пыль (в данном случае – отрицательный контроль) через 1,5 ч экспозиции была такой же, как и на разводящую жидкость (ГРВ-граммы, отображающие площадь свечения, достоверно не отличались), что указывало на отсутствие у пациента сенсibili-

лизации к данной субстанции. В отличие от этого, кривая, отображающая реакцию компонентов



крови на белок куриного яйца, имела достоверное пространственное расположение

по отношению к уже упомянутым линиям, косвенно свидетельствуя о повышенной чувствительности (аллергии) именно к этому чужеродному белковому продукту.

1

2

3

Рис. 4. Результат исследования крови, экспонированной 1,5 ч.

Примечание: 1 - разводящая жидкость,
2 - домашняя пыль,
3 - белок куриного яйца.

5. АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГРВ-ГРАФИИ

Для обоснования достоверности лабораторного установления этиологии аллергии с применением ГРВ были исследованы 53 пробы крови больных, страдающих данным заболеванием различного происхождения. При этом определяли этиологическую роль аллергенов из пера подушки (14 проб), домашней пыли (19 проб), клеща *Dermatophagoides pteronyssinus* (14 проб), белка куриного яйца (5 проб) и мяса утки (1 проба), которые, по данным аллергологического анамнеза, могли служить причиной болезни. Одновременно осуществляли тестирование тех же проб при помощи таких общепринятых методов, как реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) и иммуноферментный анализ (ИФА). О достоверности информации ГРВ-графики судили по частоте совпадения ее результатов с данными иммунологических исследований. Общий итог анализа представлен в таблице 1.

Как видно, из общего числа исследований (53 пробы) совпадение результатов, полученных с применением нового приборного и общепризнанных иммунологических методов наблюдалось в 43 случаях, что составляло 81 %. Если такое сравнение проводить по каждому аллергену в отдельности, то корреляция ответов также достаточно высока: аллерген из пера подушки и клеща *Dermatophagoides pteronyssinus* – 78 % совпадений, домашней пыли – 78,9 %, белка куриного яйца – 100 %.

Полученные материалы обработаны статистически с использованием непараметрических методов и многофакторного логлинейного анализа. На основании оценки по четырехпольной таблице по χ^2 -критерию Пирсона установлено, что между результатами, полученными с помощью

различных методов, значимое отличие отсутствует ($p < 0,05$); логлинейный анализ также свидетельствовал об этом. Проведенный корреляционный анализ указывает на наличие умеренных прямых достоверных связей между показателями.

Следует отметить, что расхождение результатов наблюдалось в 10 случаях. Причем, в 8 из них по данным ГРВ результаты были положительны, а по иммунологическим тестам, наоборот – отрицательны. Нельзя исключить, что это может быть следствием более высокой чувствительности приборного метода, учитывая его способность давать интегральную (суммарную) оценку нарушениям в различных звеньях иммунной системы, то есть по большому числу изменений в иммунной системе. Вместе с этим, отрицать категорично гипердиагностику тоже не представляется возможным. Но, если ее и признать, она столь незначительна (15 % от всех исследованных проб), что, как нам представляется, не противоречит основному выводу о перспективности нового предназначения ГРВ-метода – для детекции этиологии аллергических заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В итоге сравнительного анализа результатов исследования крови больных аллергией, полученных с помощью ГРВ-графии и общепризнанных иммунологических методов (реакция торможения миграции лейкоцитов, иммуноферментный анализ), выявлена достаточно высокая частота их совпадения – в 81 % случаев. Представленные материалы позволяют считать, что ГРВ можно отнести к числу перспективных методов определения этиологии аллергий.

Следует обратить внимание, что при отсутствии совпадения результатов метод ГРВ давал преимущественно (в 80 % случаев – в 8 из 10) положительные ответы, а иммунологические тесты – отрицательные. На этом основании авторы высказывают предположение о большей чувствительности и диагностической эффективности предлагаемого приборного метода. Гипотеза, безусловно, нуждающаяся в дальнейшей проверке, обоснована способностью ГРВ-графии, в отличие от классических тестов, оценивать суммарно многие эффекты взаимодействия причинно значимого аллергена с заинтересованными в иммунологическом процессе факторами крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганиева Х.Х. Практикум по аллергологической диагностике.- Уфа, 1998.- 48 с.
2. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология / под ред. А.В.Караулова.- М.: Медицинское информационное агенство, 1999.- 604 с.
3. Ильина Н.И. Эпидемия аллергии – в чем причина?// Российский аллергологический журнал.- 2004.- №1.- С. 37-41.
4. Ильина Н.И., Польшнер С.А. // Consilium medicum.- 2001.-Т.3, №8.- С.384-393.
5. Коротков К.Г. Основы ГРВ биоэлектрографии, С-Пб, изд. ИТМО (ТУ), 2001, 356 с.
6. Коротков К.Г., Крыжановский Э.В, Короткина С.А., и др.// Изв. вузов. Приборостроение. – 2003. – Т45. – №6. – С.18-24.
7. Коротков К.Г., Струков Е.Ю., Широков Д.М. Метод газоразрядной визуализации (ГРВ) в практике врача-исследователя: Методическое пособие.- СПб., 2003.- 40 с.
8. Крыжановский Э.В. Исследование газоразрядной визуализации растворов электролитов при различных концентрациях и взаимодействии с электромагнитным полем // Современные технологии, Сб. трудов молодых ученых. – изд. СПБИТМО. – СПб, 2001. – С.15-26
9. Лобкова О.С., Митин Ю.С. Ранняя диагностика и профилактика аллергических заболеваний в армии и военно-морском флоте: Методические рекомендации.- М., 1993.-52 с.
10. Лолор-младший, Фишер Т., Адельман Д.(ред.) Клиническая иммунология и аллергология.- М.: Практика, 2000.- 890 с.

11. Новиков Д.К., Новикова В.И. Клеточные методы иммунодиагностики.- Минск: Беларусь, 1979.- 222 с.
12. Общая аллергология /Под ред. Г.Б.Федосеева.- СПб., 2001., т.1.- 816 с.
13. Паттерсон Р., Греммер К., Гринбергер П. Аллергические болезни. Диагностика и лечение.- М.: ГЕОТАР, 2000.- 596 с.
14. Польшер А.А., Серова Т.И., Поспелова Р.А и др. Лабораторные методы специфической аллергологической диагностики.- М., 1976.- 25 с.
15. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомосова А.В. Аллергологические заболевания.- М.: Триада, 1999.- 278 с.
16. Раппопорт Ж.Ж., Ногаллер А.М. Аллергия к пищевым продуктам.- Красноярск, 1990.- 254 с.
17. Ройт А. Основы иммунологии.- М.: Мир.- 1991.- 328 с.
18. Савицкая Ж.С. Воспалительный процесс в бронхах и ГРВ-графия.- Вестник.- 2004.- №4.- С.59-64.
19. Свиридов Л.П., Степанов А.В., Комиссаров Н.В., Ахметели Г.Г. и др. Экспериментальная оценка ГРВ как метода диагностики аллергии // VII Международный конгресс по ГРВ биоэлектрографии. Наука. Информация. Сознание.- СПб., 2003.- С.10-12.
20. Свиридов Л.П., Степанов А.В., Комиссаров Н.В., Ахметели Г.Г. и др. Клинико-экспериментальное обоснование перспективности применения ГРВ-метода для этиологической диагностики аллергий // VIII Международный конгресс по ГРВ биоэлектрографии. Наука. Информация. Сознание.- СПб., 2004.- С.109-114.
21. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы.- СПб.: Наука.- 2000.- 231 с.
22. Фрадкин В.А. Аллергодиагностика in vitro.- М.: Медицина, 1990.- 256 с.
23. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты.- СПб.: Полисан.- 1998.- 110 с.
24. Фрейдлин И.С. Иммунодефицитные состояния / Под ред. В.С.Смирнова, И.С.Фрейдлин.- СПб.: Фолиант.- 2000.- С.17-90.
25. Хаитов Р.М. Клиническая аллергология. Руководство для практических врачей.- М.: МЕДпресс-информ, 2002.-423 с.
26. Хаитов Р.М. (ред.) Иммунопатология и аллергология. Алгоритмы диагностики и лечения.- М.:ГЕОТАР-Мед».-2003.- 564 с.
27. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология.- М.: Медицина, 2000.- 430 с.
28. Ярилин А.А. Основы иммунологии.- М.: Медицина, 1978.- 224 с.
29. Abbas A., Lichtman A., Pober J. Cellular and molecular immunology.- New York: W.B. Saunders Company.- 1991.- 580 p.

30. Gell P., Coombs R., Lachman P. Clinical Aspects of Immunology, 3^{ed} ed. – London: Blackwell Scientific.- 1975.- 348 p.
31. Korotkov K., Korotkin D. Concentration dependence of gas discharge around drops of inorganic electrolytes. J of Applied Physics, 2001.-V. 89. №9, pp.4732-4737.
32. Korotkov K., Krizhanovsky E., Borisova M., Korotkin D. et.al. Time dynamics of the gas discharge around drops of liquids, J.Appl.Phys.- 2004.- V.95 – p.3334-3338.
33. Schwartz L.B.// Ann. Allergy.- 1987.- V. 58.- P. 226-235.
34. Schwartz L.B. Performed mediators of human mast cells and basophils // In: Holgate S.T. ed. Mast cells mediators and diseases.- London: Kluwer Academic Publishers.- 1988.- P.129-147.