

На правах рукописи

Мухортых Валерий Алексеевич

**БИОМАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОГО И МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА В
ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПИЩЕВОЙ
АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ**

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Ревякина Вера Афанасьевна
Сенцова Татьяна Борисовна

Официальные оппоненты:

Зайцева Ольга Витальевна – Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра педиатрии, заведующая кафедрой

Мачарадзе Дали Шотаевна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Медицинский институт, кафедра сестринского дела, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства

Защита диссертации состоится «19» апреля 2021 года в 13.00 часов на заседании Диссертационного совета ДСУ 208.001.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), по адресу: 119034 г. Москва, Zubovskiy bulvar, d.37, str.1 и на сайте организации www.sechenov.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Пищевая аллергия (ПА) – важная для детского возраста проблема. В большинстве случаев она возникает у детей раннего возраста, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и сложными иммунологическими механизмами (Зайцева О.В., 2010, Лусс Л.В., 2013, Ревякина В.А., 2017, Мачарадзе Д.Ш., 2017, Tham E., Leung A., 2018). Высокую распространенность ПА в детском возрасте связывают с функциональной незрелостью органов пищеварения, особенностями мукозального, гуморального и клеточного иммунитета (Захарова И.Н., 2018, Ревякина В.А., 2019, Shu S., 2019). Одним из иммуноглобулинов, играющим важную роль в мукозальном иммунитете желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), является секреторный иммуноглобулин А (sIgA), который обеспечивает первую линию защиты слизистой оболочки от чужеродных антигенов/аллергенов (Calvo M., Grob K., 1990, Рабсон Л., Ройт А., 2006). С низкой продукцией sIgA связывают снижение барьерной функции слизистых оболочек ЖКТ, что повышает риск развития ПА (Лусс Л.В., 2011, Berin M., Mayer L., 2013). Данных литературы о sIgA при ПА недостаточно, что требует дальнейших исследований.

В последние годы активно ведутся исследования, основанные на поиске специфических маркеров воспаления, позволяющих прогнозировать течение болезни и риски повторных обострений. В этой связи особый интерес вызывают биомаркеры иммунного воспаления, к которым относятся цитокины Th2-клеток, в том числе катионные белки эозинофилов - эозинофильный катионный белок (ECP) и эозинофильный нейротоксин (EDN). Немаловажную роль в дифференциальной диагностике характера воспаления придают кальпротектину (Khan S., 2018, Xiong L., 2020). Роль катионных белков эозинофилов и кальпротектина в механизмах развития ПА у детей остается практически не изученной. Отсутствуют исследования по выявлению значимых специфических иммунологических и воспалительных маркеров при ПА. Проблема подбора эффективной персонифицированной терапии для больных ПА, основанная на определении биомаркеров воспаления, также плохо изучена. В этой связи поиск специфических биомаркеров воспаления позволит разработать патогенетическую стратегию терапии различных проявлений ПА и тем самым существенно увеличить клиническую и экономическую эффективность проводимого лечения.

Несмотря на существенный прогресс в изучении IgE-опосредованных реакций при ПА, другие механизмы (не-IgE- и клеточно-опосредованные) до конца не ясны. Большинство российских и зарубежных исследований по изучению иммунного ответа при ПА посвящены гуморальному иммунитету, лишь единичные работы – клеточному и мукозальному (Chahine B., 2010, Chinthrajah R., 2016, Martino D., 2018).

Изучение различных звеньев иммунного ответа и биомаркеров воспаления при ПА с применением современных иммунологических методов является чрезвычайно актуальной задачей современной медицины. Все это подчеркивает актуальность и необходимость поиска новых путей решения проблемы на основе комплексной оценки биомаркеров воспаления и методов терапии, влияющих на характер воспаления при ПА, что имеет важную научно-практическую значимость.

Степень разработанности темы исследования

ПА является сложным гетерогенным заболеванием, где большую роль играет наследственная предрасположенность, реализующаяся под действием факторов внешней среды и, прежде всего, иммунных белков пищи (Yu W., 2018, Suaini N., 2019, Seth D., 2020). Изучению этиологической структуры ПА посвящено большое количество работ (Pasha I., 2016, Tordesillas L., 2017, Bird J., 2018), однако сложность патогенеза ПА, полиморфизм клинических проявлений и увеличение тяжелых форм заболевания требует нового подхода к ее диагностике. Для подбора эффективной терапии необходим поиск клинически значимых биомаркеров воспаления, блокировка которых будет способствовать регрессу патологических изменений. В настоящее время ведутся попытки поиска маркеров воспаления у больных бронхиальной астмой, аллергическим ринитом, но при ПА таких работ практически нет.

На формирование системного иммунитета могут также оказывать влияние нарушения в микробиоме кишечника. Изменение состава микробиома кишечника диктует необходимость поиска путей его восстановления. До недавнего времени при ПА широко использовали пробиотики, содержащие один штамм микроорганизмов (Lee J., 2008, Boyle R., 2008, Dang D., 2013). Применение же пробиотиков нового поколения, имеющих в своем составе различные штаммы микроорганизмов, требует дальнейших исследований. В литературе отсутствуют данные о влиянии пробиотиков нового поколения на биомаркеры воспаления при ПА.

Проведение многофакторного анализа роли клинических и иммунологических триггеров в развитии ПА позволит разработать новые терапевтические подходы.

Цель исследования

Изучить биомаркеры клеточного и мукозального иммунитета у детей с ПА для разработки комплексной терапии и оценки ее эффективности.

Задачи исследования

1. Дать клиническую характеристику детей раннего возраста, страдающих различными формами пищевой аллергии.

2. Изучить особенности гуморального (общий IgE, IgG, IgM, IgA) и мукозального иммунитета (секреторный иммуноглобулин А) у детей с пищевой аллергией.

3. Изучить состав основных популяций лимфоцитов: Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), В-лимфоцитов (CD3-CD19+), естественных клеток-киллеров (NK-клеток) (CD3-CD56+CD16+), NKT-клеток (CD16+CD56+CD3+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), Т-хелперов (CD3+CD4+) у детей с различными формами пищевой аллергии.

4. Исследовать содержание эозинофильного катионного белка в сыворотке крови, эозинофильного нейротоксина и кальпротектина в кале в зависимости от клинических форм пищевой аллергии.

5. Оценить клинико-иммунологическую эффективность мультиштаммового пробиотика в рамках комплексной терапии и его влияние на состав микробиоты, биомаркеры воспаления и субпопуляционный состав лимфоцитов у детей с ПА.

Научная новизна

Впервые у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА проведено комплексное исследование мукозального, гуморального и клеточного иммунитета. Показано, что до начала терапии у всех детей отмечался низкий уровень фекального sIgA. Уровень общего IgE был повышен у 55,2% детей при нормальных значениях сывороточных IgA, IgG, IgM. Особенностью клеточного иммунитета явилась повышенная продукция Т- и В-лимфоцитов при пониженных значениях относительных чисел NK- и NKT- клеток на фоне эозинофильного воспаления.

Впервые исследованы биомаркеры воспаления: эозинофильный катионный белок в сыворотке крови, эозинофильный нейротоксин и кальпротектин в кале у детей с кожными, гастроинтестинальными и смешанными формами ПА. Установлено, что у всех детей уровни эозинофильного катионного белка и эозинофильного нейротоксина были повышены при нормальных показателях кальпротектина. Эти данные могут свидетельствовать об эозинофильном воспалении и отсутствии нейтрофильного при ПА у детей раннего возраста.

Впервые изучены особенности микробиоты кишечника бактериологическим методом у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Обнаружены нарушения микробного пейзажа кишечника в виде преобладания условно-патогенной флоры (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, грибов рода *Candida*) и снижения уровня индигенной флоры (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*).

Впервые проведена оценка терапевтической эффективности и безопасности мультиштаммового пробиотика у детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Показано существенное улучшение клинических симптомов ПА после проводимого лечения.

Определены перспективы практического использования пробиотиков в терапии кожных и гастроинтестинальных форм ПА у детей раннего возраста.

Практическая и теоретическая значимость

1. Комплексное обследование иммунного статуса у больных различными клиническими проявлениями ПА позволяет определить эозинофильный тип иммунного воспаления, характер изменений в клеточном звене иммунитета и микробиоте кишечника, что обосновывает необходимость персонализированного подхода и коррекции выявленных нарушений.

2. Выявленные нарушения в количественном и качественном составе микробиоты кишечника при ПА обосновывают оптимизацию терапии у этих больных.

3. Установлено, что включение в комплексную терапию мультиштаммового пробиотика больным ПА способствует положительной динамике клинических симптомов и удлинению ремиссии болезни.

Методология и методы исследования

Работа проводилась на базе клиники ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» с 2014 по 2019 гг. Проведено комплексное клиническо-anamnestическое, иммунологическое, аллергологическое, микробиологическое, инструментальное обследование у 192 детей с кожными и гастроинтестинальными проявлениями ПА. Использованы современные методы статистической обработки результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Оптимизация персонализированной терапии при пищевой аллергии должна осуществляться на основе комплексной оценки клинических симптомов, биомаркеров иммунного воспаления и микробиоты кишечника, которые позволяют определить характер течения болезни и проведение коррекции выявленных нарушений.

2. Рекомендуются определение эозинофильного катионного белка, эозинофильного нейротоксина, фекального кальпротектина, секреторного иммуноглобулина А и субпопуляционного состава лимфоцитов для определения типа воспаления (эозинофильного или нейтрофильного), прогноза течения болезни и эффективности терапии.

3. Для коррекции нарушений в микробиоте кишечника у больных различными клиническими проявлениями пищевой аллергии показано использование мультиштаммового пробиотика, содержащего комплекс различных пробиотических микроорганизмов, что повышает эффективность терапии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.01.08 – Педиатрия. Медицинские науки – и областям исследования п. №1 «рост, физическое, половое и нервно-психическое развитие, состояние функциональных систем ребенка», п. №6 «внутренние болезни детей».

Личный вклад

Автор самостоятельно разработал дизайн исследования, осуществил отбор пациентов, провел клинический осмотр больных, анализ результатов проведенных исследований, осуществил контроль за больными, получающими курс терапии, участвовал в постановке иммунологических и аллергологических методов обследования. Автором лично проведена статистическая обработка данных, подготовка и публикация статей по теме диссертации.

Степень достоверности и апробации результатов исследования

Степень достоверности результатов исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, предоставленными исходными данными, применением общепринятых методов исследования и лечения, современными методами статистической обработки результатов исследования.

Основные материалы диссертации представлены на Международном Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (Москва, 2016, 2017, 2019), Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2017, 2018, 2019), Всероссийском конгрессе нутрициологов и диетологов с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Качество пищи» (Москва, 2016, 2018), Московском городском съезде педиатров. «Трудный диагноз» в педиатрии. Преодолевая барьеры. II Мультидисциплинарный подход. (Москва, 2017), Congress of the European Academy of Allergy and Clinical immunology (Италия, 2016; Финляндия, 2017; Лондон, 2017; Германия, 2018, Португалия, 2019), конференции АДАИР по детской аллергологии и иммунологии для практикующих врачей (Москва, 2016), Школе молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний» (Москва, 2016), Московском обществе детских врачей (Москва, 2016, 2017), Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием (Москва, 2017, 2018, 2019), 15th EADV Spring Symposium (Черногория, 2018), конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные вопросы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2018), конгрессе АДАИР: от клинических рекомендаций к персонализации диагностики и терапии в детской аллергологии и иммунологии (Москва, 2017), 5th World Congress of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

(Glasgow, 2019). Апробация диссертации состоялась в ФГБУН Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 15 января 2020 года.

Внедрение результатов исследования

Результаты проведенной работы внедрены в лечебную и практическую деятельность отделения ОПГГИД (педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии) и отделения аллергологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», г. Москва, а также в медицинский центр «Парацельс», г. Москва.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 30 печатных работ, из них 5 статей – в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК Российской Федерации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания методов и материалов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, списка литературы, включающего 242 источника, из них 13 отечественных и 229 зарубежных. Работа иллюстрирована 15 рисунками, 42 таблицами и 3 фотографиями.

ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа проводилась на базе клиники ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (директор - член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор Никитюк Д.Б.): в отделении аллергологии (заведующая отделением - д.м.н., профессор Ревякина В.А.), в лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии (заведующая отделением - к.м.н. Короткова Т.Н.).

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

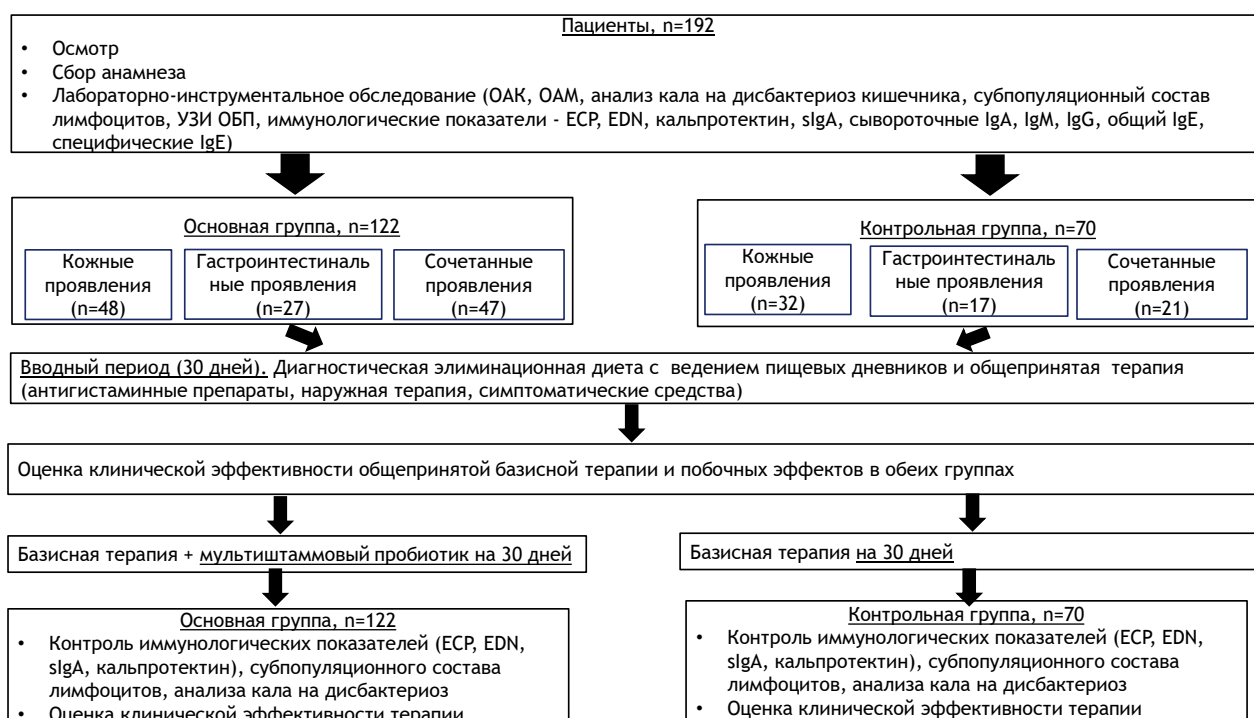


Рисунок 1 - Дизайн исследования

В ходе работы обследовано 192 ребенка в возрасте от 3 месяцев до 3-х лет, имеющие легкие, среднетяжелые и тяжелые кожные, гастроинтестинальные и сочетанные проявления ПА. У всех детей анализировали данные анамнеза жизни и болезни, сопутствующей патологии, наследственности, течение беременности у матери, вид вскармливания ребенка, особенности развития ребенка на первом году жизни, характер первых симптомов заболевания.

Исследование проводилось в период обострения ПА. У больных гастроинтестинальными проявлениями ПА основными жалобами, со слов родителей, были колики в животе, срыгивания, метеоризм, неустойчивый характер стула (разжиженный, учащенный, переваренный) с патологическими примесями (слизь, кровь), сниженный аппетит, замедление прибавки в весе; у больных кожными проявлениями – высыпания, сухость и зуд кожи различной интенсивности.

Диагноз ПА подтверждали на основании отягощенной по аллергическим заболеваниям наследственности, анализе пищевого дневника (связь между приемом определенных пищевых продуктов и клиническими проявлениями), а также положительных результатов элиминационных диет. Для оценки тяжести кожных проявлений ПА использовали шкалу SCORAD [Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993]. У больных гастроинтестинальными проявлениями ПА тяжесть оценивали по выраженности клинических симптомов.

Наблюдаемые пациенты были рандомизированы случайным образом в основную (n=122) и контрольную (n=70) группы. Всем детям проводили: общеклинические (осмотр, оценка

симптомов и тяжести течения болезни, клинические анализы крови, мочи, копрология), иммунологические (ЕСР в сыворотке крови; EDN, sIgA и кальпротектин в кале методом ИФА; уровни IgA, IgG, IgM, IgE в сыворотке крови исследовали нефелометрическим методом на автоматическом анализаторе); микробиологические (бактериологическим методом) обследования. Исследование количественного состава субпопуляций лимфоцитов в периферической крови у больных выполняли на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, США) с использованием двойных комбинаций моноклональных антител. При этом оценивали количественные соотношения основных популяций лимфоцитов: Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), В-лимфоцитов (CD3-CD19+), естественных клеток-киллеров (NK-клеток) (CD3-CD56+CD16+), NKT-клеток (CD16+CD56+CD3+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), Т-хелперов (CD3+CD4+). Иммунорегуляторный индекс (IRI) выражали соотношением Т-хелперов к Т-цитотоксическим лимфоцитам. Объем и методы исследований представлены в Таблице 1.

Таблица 1 - Объем и методы исследований

Определяемые показатели	Метод	Используемые наборы	Единица измерения	Число исследований (n)
Исследование сывороточных IgA, IgG, IgM, IgE	нефелометрический	Siemens (Германия)	IgA, IgG, IgM – г/л	192
			IgE – МЕ/мл	384
Кальпротектин	ИФА	«ELISA Calprotectin» BUHLMANN	мкг/г	384
ЕСР	ИФА	«Human eosinophil cationic protein (ЕСР) ELISA KIT»	нг/мл	384
EDN	ИФА	«EDN ELISA» Immun diagnostic	нг/г	384
sIgA	ИФА	«Вектор Бест», Новосибирск	мкг/г	384
Т-лимфоциты (CD3+CD19-), В-лимфоциты (CD3-CD19+), естественные клетки-киллеры (NK-клетки)(CD3-CD56+CD16+), NKT-клетки (CD16+CD56+CD3+)	Проточная цитофлуориметрия	Моноклональные антитела и расходные материалы к проточном цитофлуориметру NAVIOS для определения субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD45, CD56)	% / абс	110

, цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD19-), Т-хелперы (CD3+CD4+)				
Микробиологическое исследование кала	бактериологический	Качественный и количественный состав микрофлоры	абс	384

Исследование одобрено локальным комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и соответствует принципам, изложенным в Хельсинской Декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта исследования». Информированное согласие получено от всех родителей (представителей) пациентов на участие в исследовании.

Безопасность лечения и степень тяжести нежелательных явлений (НЯ) оценивали в соответствии с Общими терминологическими критериями нежелательных явлений Национального института рака (NCI CTCAE, версия 4). Отмена терапии проводилась при выраженности НЯ III степени.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Statistica 10.0, Windows. Результаты представлены в виде средних величин ($M \pm m$), медианы (Me) и интерквартильного размаха (Lower Quartile (LQ) = 25-й и Upper Quartile (UQ) = 75-й перцентили). Для оценки статистической значимости различий между группами до и после лечения применяли критерий Вилкоксона. Сравнение всех количественных признаков в двух независимых группах проводили с помощью U- критерия Манна-Уитни, в трех и более независимых группах с помощью критерия Краскела-Уоллиса. При получении статистически значимых различий между ними применяли попарное сравнение каждого показателя с помощью U-критерия Манна-Уитни с использованием поправки Бонферрони. Для анализа качественных показателей независимых групп – метод хи-квадрат, а также точный критерий Фишера для небольших выборок. Связь между изучаемыми показателями оценивали по результатам корреляционного анализа с вычислением коэффициента корреляции Спирмена (R).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под наблюдением находились 192 ребенка с кожными (41,6%), гастроинтестинальными (22,9%) и сочетанными (кожно-гастроинтестинальными - 35,5%) проявлениями ПА в возрасте от 3 месяцев до 3х лет (Таблица 2).

Таблица 2 - Распределение больных по клиническим проявлениям ПА

Клинические проявления	Группы наблюдаемых больных (n=192)	
	Основная (n=122) (1)	Контрольная (n=70) (2)
Кожные	48 (39,3%)	32 (45,7%)
Гастроинтестинальные	27 (22,2%)	17 (24,3%)
Сочетанные (кожно-гастроинтестинальные)	47 (38,5%)	21 (30,0%)

Примечание: n-число обследованных детей

Среди них были дети с различной степенью тяжести кожных, гастроинтестинальных и сочетанных проявлений ПА. В основной группе с легким течением ПА было 23% (n=28), среднетяжелым 71,3% (n=87), тяжелым 5,7% (n=7) больных. В контрольной группе больных с легким течением было 28,6% (n=20), среднетяжелым 54,3% (n=38), тяжелым 17,1% (n=12) (таблица 3). Индекс SCORAD в основной группе у детей с легкими кожными проявлениями ПА составлял $12,34 \pm 1,48$, среднетяжелыми - $32,04 \pm 1,42$, тяжелыми - $58,34 \pm 2,62$, соответственно. В контрольной группе индекс SCORAD у детей в соответствии с тяжестью кожного процесса составил $53,21 \pm 1,78$; $34,44 \pm 2,02$; $11,04 \pm 1,01$, соответственно.

Таблица 3 - Распределение детей по тяжести клинических проявлений ПА

Клинические проявления	Группы наблюдаемых больных (n=192)					
	Основная (n=122)			Контрольная (n=70)		
	Легкое	Среднее	тяжелое	легкое	среднее	Тяжелое
Кожные	8 (28,6%)	36 (41,4%)	4 (57,2%)	6 (30,0%)	18 (64,3%)	8 (66,7%)
Гастроинтестинальные	10 (35,7%)	17 (19,6%)	0	10 (50,0%)	7 (25,0%)	0
Сочетанные (кожно-гастроинтестинальные)	10 (35,7%)	34 (39,0%)	3 (42,8%)	4 (20,0%)	13 (46,7%)	4 (33,3%)

При исследовании уровней сывороточных IgA, IgG, IgM отклонений от нормы выявлено не было, однако концентрация общего IgE превышала показатели нормальных значений в несколько раз (Таблица 4).

Таблица 4 - Уровни сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM и общего IgE, Me [LQ; UQ] у больных ПА

Группы, N	IgA (г/л)	IgM (г/л)	IgG (г/л)	IgE (МЕ/мл)
Все дети, n=192	0,63 [0,42;0,95]	0,84 [0,51;1,1]	8,57 [7,17;9,93]	82 [30,7;218,47]
Гастроинтестинальные проявления (1)	0,78 [0,51;1,15]	0,96 [0,52;1,2]	9,45 [7,67;10,6]	45,5 [13,5;108]
Кожные проявления (2)	0,6 [0,41;0,91]	0,77 [0,48;1,08]	8,45 [7,2;9,73]	105,5 [47;287,9]
Сочетанные проявления (3)	0,51 [0,34;0,62]	0,79 [0,53;0,81]	7,82 [6,71;9,49]	95[31;259,5]
P _{1,2,3}	0,2	0,1	0,053	0,8

Примечание: n-число обследованных детей, p - достоверность различий между группами

Поскольку у больных кожными и гастроинтестинальными формами ПА биомаркеры воспаления достоверно не отличались, полученные результаты мы объединили в одну группу. При исследовании показателей биомаркеров воспаления выявлено, что в копрофильтратах у детей с гастроинтестинальными и кожными проявлениями ПА в основной и контрольной группах отмечался низкий уровень sIgA при нормальных показателях кальпротектина. Значения ЕСР в сыворотке крови и EDN в кале были повышены у больных ПА, что подтверждало эозинофильный тип воспаления. У больных обеих групп обнаружены высокие значения эозинофилов и общего IgE в крови (Таблица 5).

Таблица 5 - Значения биомаркеров воспаления у больных ПА, Me [LQ; UQ]

Показатели	Группы наблюдаемых больных, n= 192		P _{1,2}
	Основная (1), n= 122	Контрольная (2), n= 70	
	Кожные и гастроинтестинальные	Кожные и Гастроинтестинальные	
sIgA	98,62 [75,45;118,98]	100,1[69,6;126,4]	0,049
EDN	609,4 [300,25;1101,97]	1023,65 [327,96;1739,54]	0,01
ЕСР	29,67 [25,43;32,75]	31,23 [30,12;37,78]	0,7
Кальпротектин	16,2 [12,3;29,9]	18,5 [12,3;42,0]	0,6
Эозинофилы в крови	6,90±1,15	6,35±0,83	0,5
Общий IgE	76,5 [24,8;205,2]	86,2 [38;191,2]	0,4

Примечание: n-число обследованных детей, p - достоверность различий между группами

При анализе показателей клеточного иммунитета (Таблица 6) у всех обследованных детей обнаружено статистически значимое повышение процентного и абсолютного числа (CD3-CD19+) В-лимфоцитов при нормальных значениях процентного числа и повышения абсолютного числа (CD3+CD19-) Т-лимфоцитов. Процентное содержание (CD3+/CD4+) Т-хелперов не отличалось от нормы, а их абсолютные числа были повышены. У детей основной и контрольной групп отмечалось снижение относительного количества NKT (CD16+CD56+CD3+) - и NK-клеток (CD3-CD56+CD16+), относящихся к клеткам-эффекторам, ответственным за

противоопухолевый, противовирусный и трансплантационный иммунитет. Как известно, НК-клетки обеспечивают первый уровень защиты против различных патогенов/антигенов до включения специфических иммунных механизмов, способных секретировать цитокины и стимулировать эффекторы Th2 ответа (Wingett D., 2003, Fulya I., 2007, Ple S., 2010). Низкие значения НК-клеток у больных ПА указывают на снижении защитных реакций организма. Пониженные уровни Т-цитотоксических клеток (CD3+CD19-) могут свидетельствовать о гипореактивности иммунной системы, в частности, иммунном ответе на различные антигены (Min B., 2004, Perrigoue J., 2009, Murakami R., 2013).

Таким образом, особенностью клеточного иммунитета у больных ПА явилась повышенная продукция Т- и В-лимфоцитов при низких значениях относительного числа НК- и NKT-клеток.

Таблица 6 – Показатели субпопуляционного состава лимфоцитов у детей с ПА, Ме [LQ; UQ]

Субпопуляции лимфоцитов		До лечения		P _{1,2}
		1-я группа (основная, n=35)	2-я группа (контрольная, n=20)	
T-total cells (CD3+CD19-)	%	69,96 [66,07; 71,73]	70,22 [67,24; 72,35]	0,8
	абс. кол-во	3374 [2557; 5299]	3116,5 [2843; 4762,5]	0,9
B-total cells (CD3-CD19+)	%	21,32 [16,54; 25,55]	23,21 [17,75; 26,88]	0,1
	абс. кол-во	1123 [749; 1521]	1176,5 [919; 1365]	0,6
NK-cells (CD3-CD56+CD16+)	%	6,07 [4,78; 9,8]	6,535 [4,595; 9,545]	0,9
	абс. кол-во	364 [256; 535]	354 [201; 526,5]	0,9
Th-cells (CD3+CD4+)	%	47,43 [42,33; 53,96]	44,03 [38,55; 50,91]	0,2
	абс. кол-во	2590 [1656; 3759]	2100,5 [1775; 3301,5]	0,8
NKT-cells (CD16+CD56+CD3+)	%	0,48 [0,27; 0,96]	0,35 [0,21; 0,49]	0,1
	абс. кол-во	23 [18; 52]	21 [11,5; 25]	0,056
Tcytotox-cells (CD3+CD19-)	%	18,69 [16,34; 23,4]	18,99 [17,6; 23,275]	0,7
	абс. кол-во	846 [750; 1221,0]	869 [796,5; 1130,5]	0,8
IRI(Th/Tcytotox)	%	2,36 [1,73; 3,08]	2,335 [1,685; 2,790]	0,5

Примечание: n-число обследованных детей, p - достоверность различий между группами

Результаты проведенных бактериологических исследований показали, что у всех больных основной и контрольной групп до начала лечения были выявлены нарушения микробного пейзажа кишечника в виде преобладания условно-патогенной флоры (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, грибов рода *Candida*) и сниженного уровня индигенной флоры (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *E. coli*) (Рисунок 2).

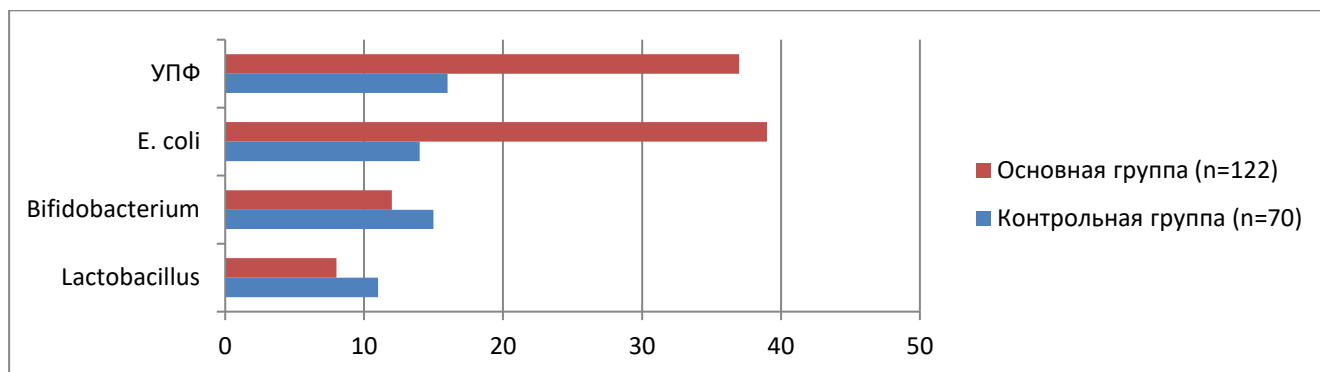


Рисунок 2 – Результаты бактериологических исследований в обследованных группах

Всем больным в вводном периоде назначали диагностическую элиминационную диету с ведением пищевых дневников и общепринятую терапию (антигистаминные препараты, наружная терапия, симптоматические средства). К концу вводного периода проводили оценку клинической эффективности общепринятой базисной терапии в обеих группах. Далее, детям основной группы к базисной терапии добавлялся мультиштаммовый пробиотик по 1 саше в день во время приема пищи. Дети контрольной группы продолжали получать базисную терапию. Длительность терапии составляла 30 дней. По окончании терапии вновь проводили оценку клинической эффективности, мукозального и клеточного иммунитета у детей обеих групп.

Мультиштаммовый пробиотик состоит из лиофилизированных пробиотических и молочнокислых культур (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophulus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*), а также фруктоолигосахариды из инулина. Не содержит лактозы.

На фоне применения мультиштаммового пробиотика через 30 дней терапии у большинства детей основной группы выявлена положительная динамика клинических симптомов (Рисунок 3,4). Так, у 95,9% больных гастроинтестинальными проявлениями значимое улучшение всех гастроинтестинальных симптомов (купирование срыгиваний, колик, нормализация частоты стула; у 4,1% пациентов, на фоне снижения жалоб со стороны ЖКТ, эпизодически сохранялись редкие включения слизи в стуле). Значительное уменьшение кожных высыпаний отмечалась у 89,5% больных основной группы (индекс SCORAD составил $7,3 \pm 0,4$) и лишь у 10,5% детей сохранялись периодически возникающие кожные высыпания на фоне проводимой терапии.

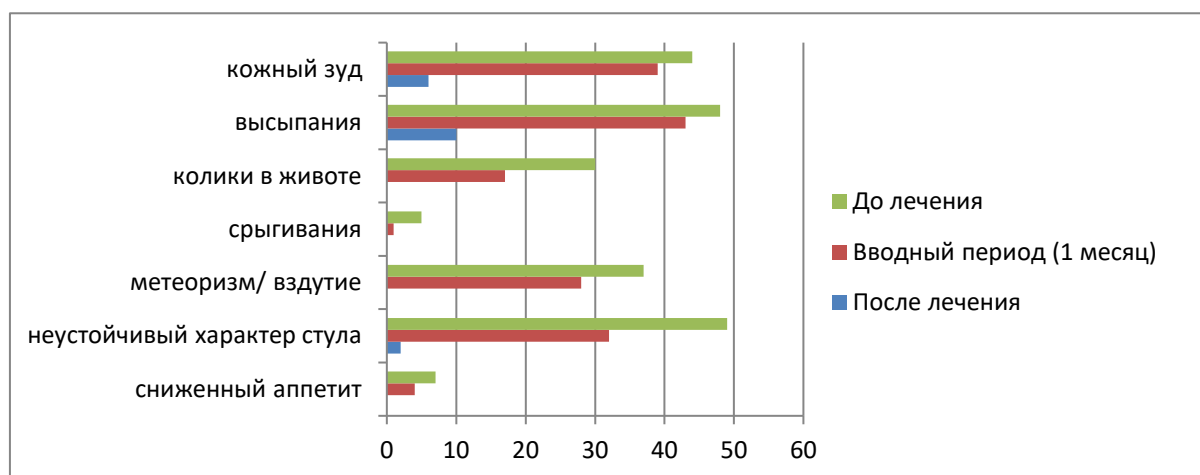


Рисунок 3- Динамика клинических проявлений ПА у детей основной группы (n=122)

В контрольной группе положительная динамика клинических симптомов отмечалась у 73,3% больных гастроинтестинальными проявлениями и у 75,5% кожными проявлениями ПА. Эффективность терапии у детей основной группы, получавших комплексную терапию вместе с мультиштаммовым пробиотиком, была выше по сравнению с контрольной группой больных.

Общая эффективность терапии у больных основной группы составляла 92,7% против 74,4% у детей в группе контроля.

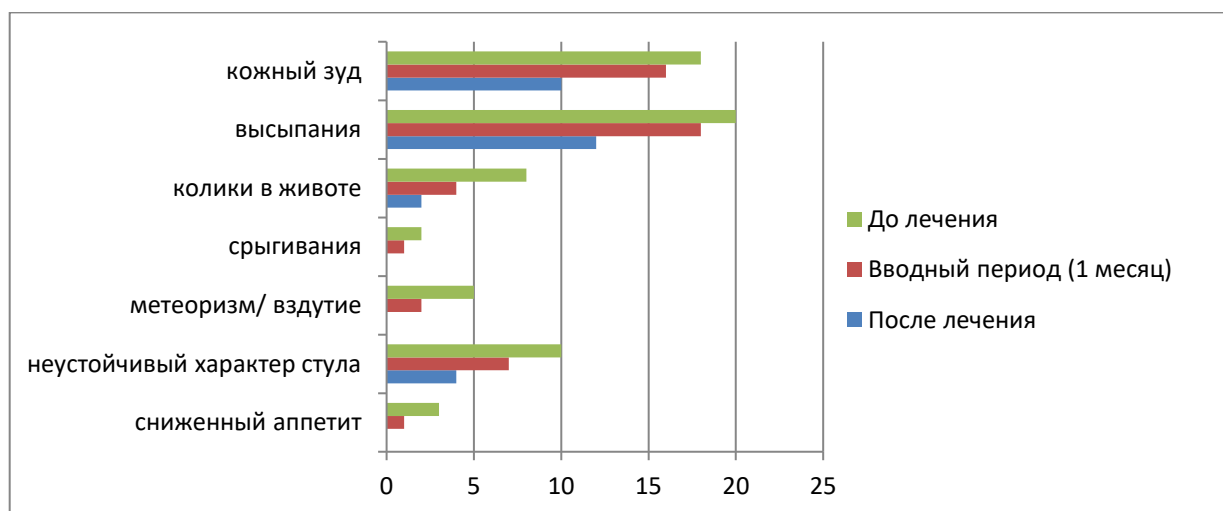


Рисунок 4 - Динамика клинических проявлений ПА у детей контрольной группы (n=70)

На фоне проводимого лечения мультиштаммовым пробиотиком у детей основной группы отмечалось достоверное повышение sIgA, снижение EDN и ECP по сравнению с показателями детей контрольной группы ($p < 0,05$) (Таблица 7). Повышение sIgA и снижение EDN коррелировало с клиническим улучшением кожных и гастроинтестинальных симптомов у детей основной группы по сравнению с детьми контрольной группы ($r = +0,74$, $r = +0,55$, соответственно). У детей основной группы наблюдалось статистически значимое снижение эозинофилов в

периферической крови и уменьшение концентрации общего IgE в сыворотке крови по сравнению с группой контроля ($p<0,05$).

Таблица 7 - Динамика показателей воспаления на фоне проводимого лечения, Ме [LQ; UQ]

Показатели	Группы наблюдаемых больных n=192				P _{A1,A2}
	Основная n=122 (A)		Контрольная n=70 (B)		P _{B1, B2}
	До (1)	После (2)	До (1)	После (2)	
sIgA, мкг/г	98,62 [75,45; 118,98]	120,2 [85,6;135,6]	100,1 [69,6; 126,4]	101,0 [70,3;126,2]	<0,001 0,6
EDN, нг/г	609,4 [300,4;1101,9]	456,36 [151,06;886,96]	1023,65 [327,96; 1739,54]	1025,36 [325,62; 1820,36]	<0,001 0,5
ЕСР, нг/мл	29,67 [25,43;32,75]	19,12 [14,6;22,54]	31,23 [30,12;37,78]	29,33 [25,12; 33]	<0,001 0,8
Кальпротектин, мкг/г	16,2 [12,3;29,9]	19,8 [13,7;22,6]	18,5 [12,3;42,0]	20,9 [16,5;24,4]	0,057 0,5
Эозинофилы в крови	6,90±1,15	3,11± 1,20	6,35±0,83	6,12±0,67	<0,001 0,5
Общий IgE, МЕ/мл	76,5 [24,8;205,2]	44,5 [34,3;105,4]	86,2 [38;191,2]	64,2 [38;102,2]	0,04 0,06

Примечание: n-число обследованных детей, p - достоверность различий между группами

Включение мультиштаммового пробиотика в комплексную терапию ПА способствовало достоверному уменьшению абсолютного количества T-total cells, B-total cells, Th-cells и Tcytotox-cells в обеих группах ($p<0,05$) (таблица 6). Переносимость мультиштаммового пробиотика была хорошей. Побочных реакций не отмечено.

Таблица 8 – Показатели субпопуляционного состава лимфоцитов у детей с ПА, Ме [LQ; UQ]

Субпопуляции лимфоцитов		До лечения (A)		После лечения (B)		P _{A1,B1} P _{A2,B2}
		1-я группа (основная, n=35)	2-я группа (контрольная, n=20)	1-я группа (основная, n=35)	2-я группа (контрольная, n=20)	
T-total cells (CD3+CD19-)	%	69,96 [66,07; 71,73]	70,22 [67,24; 72,35]	70,15 [64,62; 73,58]	68,95 [63,82; 73,35]	0,7 1,0
	абс. кол- во	3374 [2557; 5299]	3116,5 [2843; 4762,5]	2865,5 [1980; 3868]	3047,5 [2483; 3746,5]	<0,001 0,01
B-total cells (CD3-CD19+)	%	21,32 [16,54; 25,55]	23,21 [17,75; 26,88]	21,68 [17,23; 25,37]	22,98 [19,66; 27,16]	0,3 0,8

	абс. кол- во	1123 [749; 1521]	1176,5 [919; 1365]	844,5 [420; 1198]	899,5 [722,5; 1209,5]	0,03 0,01
NK-cells (CD3- CD56+CD16+)	%	6,07 [4,78; 9,8]	6,535 [4,595; 9,545]	7,01 [4,38; 9,5]	7,475 [4,595; 9,585]	0,3 0,5
	абс. кол- во	364 [256; 535]	354 [201; 526,5]	279 [161; 374]	296 [193,5; 371]	0,059 0,2
Th-cells (CD3+CD4+)	%	47,43 [42,33; 53,96]	44,03 [38,55; 50,91]	44,94 [40,8; 49,78]	43,15 [38,24; 48,23]	0,3 0,8
	абс. кол- во	2590 [1656; 3759]	2100,5 [1775; 3301,5]	1650,5 [1233; 2761]	1551,5 [1252,5; 2622]	<0,001 <0,001
NKT-cells (CD16+CD56+ CD3+)	%	0,48 [0,27; 0,96]	0,35 [0,21; 0,49]	0,64 [0,28; 3,31]	0,435 [0,225; 0,995]	0,2 0,2
	абс. кол- во	23 [18; 52]	21 [11,5; 25]	28,5 [16; 82]	17 [7; 35]	0,7 0,8
Tcytotox-cells (CD3+CD19-)	%	18,69 [16,34; 23,4]	18,99 [17,6; 23,275]	20,89 [17,87; 24,42]	20,495 [16,595; 23,46]	0,2 0,8
	абс. кол- во	846 [750; 1221,0]	869 [796,5; 1130,5]	816,0 [630,0; 1043,0]	797 [616,5; 1023]	0,01 0,01
IRI(Th/Tcytotox)	%	2,36 [1,73; 3,08]	2,335 [1,685; 2,790]	2,11 [1,77; 3,08]	2,150 [1,785; 2,595]	0,2 0,8

Примечание: n-число обследованных детей, p - достоверность различий между группами

После окончания курса лечения мультиштаммовым пробиотиком содержание микроорганизмов индигенной микрофлоры в фекалиях значительно возросло (*Bifidobacterium*: до 10^8 КОЕ/мл у 75%, *Lactobacillus*: до 10^6 КОЕ/мл у 62,5%; *E. coli*: до 10^8 КОЕ/мл у 54% пациентов), а количество условно-патогенных микроорганизмов у 70,2% уменьшилось (Рисунок 5). Увеличение количества *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *E. coli* к концу первого месяца лечения мультиштаммовым пробиотиком у больных ПА является одним из маркеров оценки эффективности лечения.

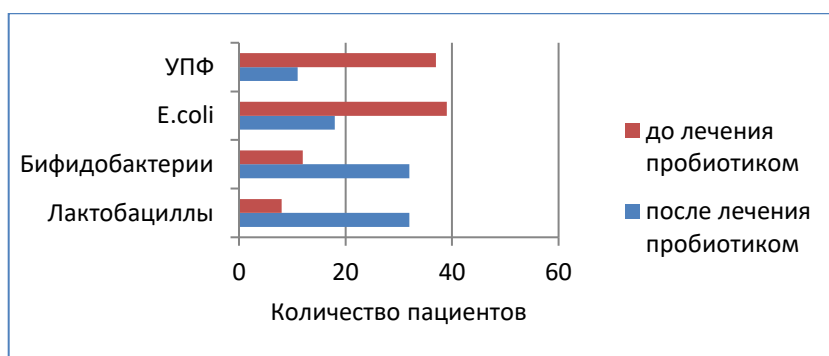


Рисунок 5 - Содержание микроорганизмов индигенной микрофлоры у детей основной группы после лечения мультиштаммовым пробиотиком (n=122)

Результаты бактериологических исследований в контрольной группе пациентов, не получавших мультиштаммовый пробиотик, показали, что содержание микроорганизмов индигенной микрофлоры в кале возросло у меньшего числа (22,3%) больных (Bifidobacterium: до 10^8 КОЕ/мл у 11,8%; Lactobacillus: до 10^6 КОЕ/мл у 26,7%; E. coli: до 10^8 КОЕ/мл у 28,4% пациентов), а количество условно-патогенных микроорганизмов снизилось у 37,5% (Рисунок 6).

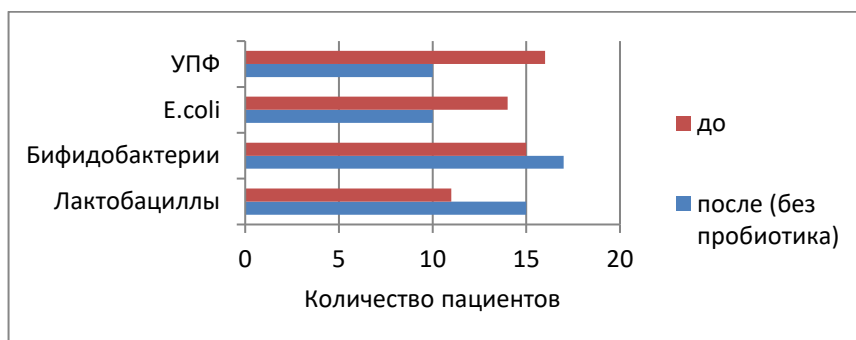


Рисунок 6 - Содержание микроорганизмов индигенной микрофлоры у детей контрольной группы на фоне базисной терапии (n=70)

Проведенное исследование подтверждает, что для восстановления нарушенного микробиома кишечника показано использование препаратов, содержащих пробиотические микроорганизмы на фоне адекватно подобранной диетотерапии.

Таким образом, ПА характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и сложными механизмами развития. Повышение уровней EDN и ECP у детей с ПА указывает на наличие эозинофильного воспаления у этих больных. Низкие значения sIgA свидетельствуют о нарушениях в системе мукозального иммунитета и снижении барьерных функций слизистой оболочки ЖКТ. Нормальные показатели кальпротектина в кале связаны, по-видимому, с отсутствием нейтрофильного воспаления в кишечнике у обследованных больных.

Все вышесказанное подтверждает тот факт, что специфические биомаркеры воспаления являются важным инструментом в выявлении типа воспаления, выборе адекватного лечения и оценки его эффективности.

Включение в комплексное лечение детей с ПА мультиштаммового пробиотика способствует купированию симптомов со стороны кожи и желудочно-кишечного тракта. Повышение sIgA и снижение показателей EDN, ECP на фоне применения мультиштаммового пробиотика свидетельствует о его влиянии на аллергическое (иммунное) воспаление у больных ПА. Проведенное исследование подтверждает клиническую пользу включения в комплексное лечение детей с ПА мультиштаммового пробиотика и позволяет рассматривать данный подход как один из способов повышения эффективности терапии ПА у детей раннего возраста.

ВЫВОДЫ

1. Установлен полиморфизм клинических проявлений пищевой аллергии у детей раннего возраста, среди которых преобладают кожные и сочетанные (кожно-гастроинтестинальные) проявления, которые отмечаются у 41,7% и 35,4% больных, соответственно. Гастроинтестинальные проявления наблюдаются реже (22,9%)

2. Выявлен эозинофильный тип воспаления у всех больных пищевой аллергией на основании повышенных значений эозинофилов и эозинофильного катионного белка в крови, а также эозинофильного нейротоксина в кале при нормальных значениях фекального кальпротектина. Это позволяет выбрать персонифицированный подход к дието- и фармакотерапии болезни

3. Установлена клиническая значимость биомаркеров тяжести пищевой аллергии - низкие концентрации sIgA в кале и естественных киллеров (NK-клеток) в крови. Наиболее низкие значения этих показателей обнаружены у большинства больных (82%) с сочетанными кожно-гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии

4. Выявлены особенности изменений в клеточном звене иммунитета у больных пищевой аллергией в виде повышения относительного и абсолютного числа CD3+/CD8, CD4+/CD8 лимфоцитов, снижения относительного количества NK-клеток, NKT-лимфоцитов, Т-цитотоксических клеток, что, возможно, отягощает течение болезни и требует подбора корректирующей терапии

5. При исследовании количественного и качественного состава микробиоты кишечника у всех больных пищевой аллергией обнаружено изменение микробиоты (низкие значения Lactobacillus, Bifidobacterium, E.coli на фоне повышения количества условно-патогенной флоры Staphylococcus aureus, Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella, Proteus, грибов рода Candida), что требует коррекции выявленных нарушений

6. Включение в комплексную терапию пищевой аллергии мультиштаммового пробиотика способствует улучшению клинических проявлений и уменьшению воспалительного процесса за счет повышения sIgA и снижения эозинофильного нейротоксина и эозинофильного катионного белка ($p < 0,05$) у наблюдаемых больных по сравнению с группой контроля

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Комплексное обследование иммунного статуса у больных различными клиническими проявлениями ПА позволяет определить эозинофильный тип иммунного воспаления, характер изменений в клеточном звене иммунитета и микробиоте кишечника, что обосновывает необходимость персонализированного подхода и коррекции выявленных нарушений.

2. Выявленные нарушения в количественном и качественном составе микробиоты кишечника при ПА обосновывают оптимизацию терапии у этих больных.

3. Установлено, что включение в комплексную терапию мультиштаммового пробиотика больным ПА способствует положительной динамике клинических симптомов и удлинению ремиссии болезни.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фенотипы пищевой аллергии у детей. В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова, М.И. Шавкина, **В.А. Мухортых** // **Вопросы питания. (Scopus).** – М., 2016. – Т.85, №1. - С.75-80
2. Гастроинтестинальная пищевая аллергия: трудный диагноз. Клинический разбор больных. **В.А. Мухортых** // **Эффективная фармакотерапия.** – М., 2017. - №2 – С.9-12
3. Эффективность применения пробиотика у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии. В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых** // **Вопросы детской диетологии.** - М., 2017. - Т.15, №1 - С.57-58
4. Роль пробиотиков в повышении эффективности терапии у детей с пищевой аллергией/ **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина // **Смоленский медицинский альманах.** - С., 2017. - №4. – С.38-41
5. Альтернативные продукты для питания больных аллергией на куриное яйцо. В.А. Ревякина, Е.Д. Кувшинова, И.А. Ларькова, Т.Б. Сенцова, **В.А. Мухортых**, И.В.Ворожко // **Вопросы питания. (Scopus).** - М., 2017. Т.86, № 3. - С.77-82.

6. Эффективность применения пробиотиков у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии. В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых** // Вопросы детской диетологии. - М., 2017. – Т.15, №1 - С.57-59
7. Mucosal immunity in infants with food allergy. Vorozhko I., **Mukhortykh V.**, Sentsova T., Chernyak O. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 17-21 June 2017, Helsinki, Finland. Volume 72, Issue S103
8. Eosinophil cationic protein and eosinophil derived neurotoxin levels in children with food allergy. Sentsova T., **Mukhortykh V.**, Vorozhko I., Chernyak O. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 17-21 June 2017, Helsinki, Finland. Volume 72, Issue S103
9. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии. **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина, Т.Б. Сенцова, И.В. Ворожко // Вопросы детской диетологии. – М., 2018. - Т.16, приложение №1 - С.39-40
10. Полиморфизм пищевой аллергии у детей. Современные возможности дифференциальной диагностики. В.А. Ревякина, Е.Д. Кувшинова, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых**, П.О. Кравцова // Вопросы детской диетологии. – М., 2018. - Т.16, приложение №1 - С.41-42
11. Современные возможности коррекции микрофлоры кишечника у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии. В.А. Ревякина, **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова // Вопросы детской диетологии. – М., 2018. - Т.16, приложение №1 - С.42-43
12. Опыт применения мультиштаммового пробиотика у детей с гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии. **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина // **Вопросы детской диетологии. (Scopus)**. – М., 2018. Т.16, №4 – С.57-61
13. Coprofiltrate eosinophilic neurotoxin levels in children with food allergy. Sentsova T., Ilyenko L., **Mukhortykh V.**, Vorozhko I., Chernyak O. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 26-30 May 2018, Munich, Germany. Volume 73, Issue S105
14. Serum eosinophil cationic protein level dynamics in children with food allergy. Sentsova T., Ilyenko L., **Mukhortykh V.**, Vorozhko I., Chernyak O. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 26-30 May 2018, Munich, Germany. Volume 73, Issue S105
15. The clinical effectiveness of the multiprobiotic treatment for children suffering from food allergy. Larkova I. A., **Mukhortykh V. A.**, Revyakina V. A. // Special issue: Abstracts from the

European academy of allergy and clinical immunology Congress, 26-30 May 2018, Munich, Germany. Volume 73, Issue S105

16. The fecal IgA as a biomarker of the immune maturation of the multiprobiotic treatment for children with food allergy. **Mukhortykh V. A.**, Sentsova T. B., Revyakina V. A., Larkova I. A., Vorozhko I. V. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 26-30 May 2018, Munich, Germany. Volume 73, Issue S105

17. Секреторный IgA в оценке эффективности комплексной терапии пищевой аллергии у детей. **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова // Российский вестник перинатологии и педиатрии - М., 2018. – Т.63. №4, С.158-159

18. Современные возможности коррекции микробиоценоза кишечника у детей с пищевой аллергией. **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина // Вопросы детской диетологии. – М., 2018. - Т.87, №5 - С.146-147

19. Эффективность использования мультиштаммового пробиотика у детей с различными проявлениями пищевой аллергии. **В.А. Мухортых** // Сборник тезисов «Трудный диагноз» в педиатрии. IV Мультидисциплинарный подход. Московский городской съезд педиатров. - М., 2018 – С.95-96

20. Трудный пациент в детской аллергологической практике. Клинические случаи. **В.А. Мухортых** // Эффективная фармакотерапия – М., 2018. - №38 – С.38-40

21. Современные пути повышения эффективности терапии пищевой аллергии у детей. **В.А. Мухортых**, В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, Е.Д.Кувшинова // **Российский аллергологический журнал.** - М., 2019 – Т.16. №4, С.24-29

22. Can a multi-strain probiotic have an effect on allergic inflammation in children with food allergy? Larkova I. A., **Mukhortykh V. A.**, Revyakina V. A., Vorozhko I.V., Dzussoeva E.V. // Special issue: Abstracts from the European academy of allergy and clinical immunology Congress, 01-05 June 2019, Lisbon, Portugal. Volume 74, Issue S106

23. Атопический дерматит, современная стратегия в терапии. В.А. Ревякина, А.В. Таганов, Е.Д. Кувшинова, И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых** // **Лечащий врач.** – М., 2019. №5 – С.32-37

24. Диагностическая значимость эозинофильного нейротоксина в кале у детей с различными проявлениями пищевой аллергии. **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, В.А. Ревякина, Т.Б. Сенцова, И.В. Ворожко // Российский аллергологический журнал. - М., 2019 – Т.16. №1

25. The multi-strain probiotic in children with gastrointestinal food allergy. Inna Larkova, Vera Revyakina, **Valeriy Mukhortykh**, Ilya Vorozhko // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (JPGN). Volume 68, supplement 1, May 2019, page 300

26. Применение мультиштаммового пробиотика в модуляции иммунного ответа у детей с пищевой аллергией. И.А. Ларькова, **В.А. Мухортых**, В.А. Ревякина, И.В. Ворожко, Е.В. Джуссоева // Российский вестник перинатологии и педиатрии – М., 2019 - Т. 64. № 4. - С.166.
27. Characteristics of cell – mediated immunity in children with food allergy. **V.A.Mukhortykh**, I.A.Larkova, V.A.Revyakina, I.V.Vorozhko // European journal of allergy and clinical immunology. - Volume 75, Supplement 109, August 2020, page 526
28. Biomarker of eosinophilic inflammation in children suffering from food allergy. **V.A.Mukhortykh**, I.A.Larkova, V.A.Revyakina, I.V.Vorozhko // European journal of allergy and clinical immunology. - Volume 75, Supplement 109, August 2020, page 527
29. Multi-strain probiotic as an adjuvant in oral tolerance in children with food allergy. I.A. Larkova, **V.A. Mukhortykh**, V.A.Revyakina, T.N.Korotkova // European journal of allergy and clinical immunology. - Volume 75, Supplement 109, August 2020, page 550
30. Оценка биомаркеров воспаления при использовании мультиштаммового пробиотика в комплексной терапии пищевой аллергии у детей. В.А. Ревякина, **В.А. Мухортых**, И.А. Ларькова, Т.Б. Сенцова, И.В. Ворожко, Е.Д. Кувшинова // **Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. (Scopus)**. - М., 2020 – Т.99, №2. - С.68-74

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ПА – пищевая аллергия;
 ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;
 ИФА – иммуноферментный анализ;
 ПЦР – полимеразная цепная реакция;
 IgM – иммуноглобулин класса М;
 IgA – иммуноглобулин класса А;
 IgG – иммуноглобулин класса G;
 IgE – иммуноглобулин класса E;
 НК-клетки – естественные киллеры;
 АД – атопический дерматит;
 Th1, Th2 – субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов (хелперов) 1 и 2 типа;
 EDN – эозинофильный нейротоксин;
 sIgA – секреторный иммуноглобулин класса А;
 ЕСР – эозинофильный катионный белок;
 SCORAD – Scoring of Atopic Dermatitis;
 БКМ – белки коровьего молока;
 LQ – нижний (25-й) квартиль;
 Me (mediana) – медиана значений;
 UQ - верхний (75-й) квартиль.