

УДК 616-056.3+612.112.93:571.27

DOI: 10.14427/jipai.2025.3.6

## Имунофункциональная характеристика культивированных тучных клеток человека и их применение в диагностике IgE-опосредованных реакций гиперчувствительности

И.В. Романова<sup>1</sup>, А.Е. Гончаров<sup>1</sup>, А.П. Рубан<sup>1</sup>, Л.З. Шереметьева<sup>2</sup><sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск<sup>2</sup> Учреждение здравоохранения «3-я городская клиническая больница имени Е.В. Клумова», Минск

## Immunofunctional properties of cultured human mast cells and their application in IgE-mediated hypersensitivity reaction diagnosis

I.V. Romanova<sup>1</sup>, A.Y. Hancharou<sup>1</sup>, A.P. Ruban<sup>1</sup>, L.Z. Sheremetyeva<sup>2</sup><sup>1</sup> Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus<sup>2</sup> Healthcare Institution "3rd City Clinical Hospital named after E.V. Klumova", Minsk, Belarus

### Аннотация

Перспективным направлением в диагностике аллергических реакций немедленного типа является оценка аллергенспецифической активации тучных клеток с применением сыворотки пациента, потенциально содержащей антитела класса IgE, и стандартизированных аллергенов. Нами разработана методика получения тучных клеток путём дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови. В данной статье рассматривается роль тучных клеток в развитии аллергического воспаления, изложены метод их генерации *ex vivo* и иммуноморфологическая характеристика, а также возможность их практического использования в лабораторной диагностике IgE-опосредованных реакций.

### Ключевые слова

Тучные клетки, культивирование клеток, гиперчувствительность, диагностика.

### Summary

A promising option for diagnosing immediate allergic reactions is the assessment of allergen-specific activation of mast cells using standardized allergens and patient serum that potentially contains IgE antibodies. We have developed a method for obtaining mast cells from umbilical cord blood-derived hematopoietic stem cells. This article reviews the role of mast cells in the development of allergic inflammation, describes the method of their generation *ex vivo*, their immunomorphological properties, as well as the possibility of their practical use in laboratory diagnostics of IgE-mediated reactions.

### Keywords

Mast cells, cell cultivation, hypersensitivity, diagnostics.

### **Введение**

Тучные клетки представляют собой клетки миелоидного происхождения, которые располагаются преимущественно в соединительной ткани, окружающей кровеносные сосуды и нервы, а также гладкомышечные клетки [1,2]. Как известно, тучные клетки наряду с базофилами экспрессируют полную тетрамерную форму ( $\alpha\beta\gamma\delta$ ) высокоаффинного рецептора к IgE (FcεRI). При перекрёстном сшивании связанного с FcεRI специфического IgE с антигенами (аллергенами) тучные клетки (ТК) высвобождают разнообраз-

ные вазоактивные медиаторы и цитокины, что клинически проявляется реакциями немедленной гиперчувствительности с соответствующими клиническими симптомами и последующим развитием аллергического воспалительного процесса [3].

Развитие ТК, как и большинства клеток иммунной системы, начинается в костном мозге из плюрипотентной гемопоэтической стволовой клетки (ГСК) (CD34+CD117+), дифференцировка которой идёт в миелоидном направлении, главным образом под действием цитокина ИЛ-3 и фактора роста стволовых клеток (stem cell factor

(SCF)) [4]. В связи с морфологическим и физиологическим сходством базофилы часто указываются как предшественники ТК, так как в своё время в селезёнке мыши был идентифицирован бипотентный, коммитированный предшественник обеих клеток [5,6]. Однако, если базофилы созревают в костном мозге, после чего выходят в кровоток, то зрелые формы ТК в костном мозге не представлены. В отличие от других клеток кроветворного происхождения, которые дифференцируются и созревают в костном мозге, прежде чем попасть в кровоток, ТК мигрируют как незрелые клетки-предшественники в периферические ткани, где завершают своё созревание [7].

В последние годы опубликованы исследования по пассивной сенсбилизации ТК сывороткой пациента с последующей оценкой маркеров активации и дегрануляции на проточном цитометре, так называемый тест активации тучных клеток (MAT – mast cell activation test) [8–10]. Данный метод отчасти схож с постановкой теста активации базофилов (Basophil activation test – BAT), который в настоящее время рассматривают как надёжный дополнительный метод для диагностики IgE-опосредованных реакций и изучения перекрёстной реактивности между структурными гомологами [8,11]. Однако BAT имеет ряд ограничений, которые затрудняют более широкое применение метода. Так, для проведения BAT требуются свежие образцы периферической крови (от момента забора крови должно пройти не более 6 часов), транспортируемые строго при определённой температуре. Кроме того, у ряда пациентов (по литературным и собственным данным от 5 до 15% пациентов) отмечается феномен «неотвечающих» базофилов, который препятствует выполнению диагностики [12]. В этой связи имеется необходимость разработки нового метода, также основанного на определении активации и дегрануляции клеток-эффекторов, но лишённого недостатков BAT.

Учитывая, что для постановки MAT используется сыворотка крови, которую можно заморозить и длительно хранить до востребования, данный метод представляет интерес, в первую очередь, благодаря возможности проведения серийного исследования с целью одномоментной диагностики с использованием одной и той же линии ТК. Кроме того, благодаря тому, что специфическая отвечаемость ТК может быть установлена до постановки теста, может быть решён вопрос с «неотвечающими» базофилами [10]. В то же время для проведения MAT требуются ТК в большом количестве, а единственным доступным

вариантом получения биомассы ТК является их дифференцировка из ГСК, которые могут быть выделены из пуповинной крови, костного мозга, а также из периферической крови [13].

**Целью** настоящего исследования было получить морфологически и функционально зрелые ТК путём их дифференцировки из ГСК, выделенных из пуповинной крови, с дальнейшей разработкой теста активации ТК (MAT), а также апробация MAT для перспективной лабораторной диагностики реакций гиперчувствительности немедленного типа.

## Материалы и методы

**Объекты исследования.** Объектами исследования служили пуповинная кровь новорождённых и сыворотка пациентов с подтверждёнными IgE-опосредованными реакциями в анамнезе. Пуповинную кровь (n=10) помещали в стерильные пробирки с гепарином в родильном отделении учреждения здравоохранения «3-я городская клиническая больница им. Е.В. Клумова» г. Минска. На базе отделения клеточной терапии ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» осуществляли сбор сыворотки пациентов (n=45), в анамнезе которых наблюдались реакции гиперчувствительности немедленного типа на следующие аллергены: берёза (n=16), арахис (n=9), домашняя пыль (n=11), рыба (n=4), яд перепончатокрылых (n=5). Для использования в качестве контрольных образцов было отобрано 16 сывороток здоровых добровольцев без аллергических реакций в анамнезе.

**Культивирование ТК.** Перед началом культивирования определяли количество ГСК в каждом образце пуповинной крови с помощью проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к CD34 (APC, клон 104D2 (ExBio, Чехия) и CD45 (BV711, клон HI30 (BD, США). Пул мононуклеарных клеток из образцов пуповинной крови получали методом градиентного центрифугирования. Затем с помощью положительной иммуномагнитной сепарации (набор «CD34 MicroBead Kit», Miltenyi Biotec, Германия) получали чистую популяцию CD34<sup>+</sup> клеток. Выделенные ГСК в количестве 1-5×10<sup>5</sup>/мл культивировали в бессывороточной питательной среде StemPro-34 SFM (Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением 0,2 mM раствора L-глутамин, гентамицина в конечной концентрации 50 мкг/мл и рекомбинантных цитокинов человека: 100 нг/мл SCF (BioVision, США) и 50 нг/мл ИЛ-6 (Invitrogen, США) в течение 6 недель. С целью эффективной пролиферации ГСК в течение первых двух недель

культивирования добавляли ИЛ-3 в концентрации 100 нг/мл, затем – 10 нг/мл. Начиная с шестой недели культивирования, для индукции созревания ТК добавляли фетальную бычью сыворотку (FBS) в концентрации 5-10%.

**Имунофенотипирование ТК.** Ведение культур клеток сопровождалось оценкой иммунофенотипа на проточном цитометре CytoFlex LX (Beckman Coulter, США) на 7, 14, 28 и 42 сутки культивирования. С этой целью отбирали  $5 \times 10^5$  клеток и инкубировали со следующими моноклональными антителами: CD13 PE-Cy7, клон WM15 (ExBio, Чехия), CD14 FITC, клон M5E2 (Elabscience, Китай), CD34 APC, клон 104D2 (ExBio, Чехия), CD193 APC, клон MA5-38735 (Thermo Fisher Scientific, США), CD294 FITC, клон BM16 (Becton Dickinson, США), HLA-DR APC, клон MEM-12 (ExBio, Чехия), CD117 APC-Cy7, клон 104D2 (ExBio, Чехия), CD203c PE, клон NP4D6 (ExBio, Чехия), FcεRIα PE-Cy7, клон AER-37 (Biolegend, США), CD45 BV711, клон HI30 (BD, США). Дополнительно на 50-56-е сутки оценивали интенсивность экспрессии FcεRIα на двойных позитивных клетках CD117<sup>+</sup>CD203c<sup>+</sup>.

Имунофенотип и морфологию ТК также анализировали на 44-46-е сутки с применением визуализирующего проточного цитометра Amnis ImageStreamX mkII (Cytek Bioscience, США). Моноклональные антитела CD203c PE, клон NP4D6 (ExBio, Чехия), CD63 FITC, клон MEM-259 (ExBio, Чехия) и CD107a APC, клон REA792 (Miltenyi, США) добавляли к отобраным культивируемым клеткам в концентрации  $1 \times 10^6$  и инкубировали в течение 30 минут. После отмывки клеток от несвязавшихся моноклональных антител проводили учёт на увеличении  $\times 60$ .

**Имунофлуоресцентная микроскопия.** На предметном стекле готовили препарат ТК, фиксированный метанолом. Окрашивали клетки с использованием моноклонального антитела к CD203c PE, клон NP4D6 (ExBio, Чехия) и флуоресцентного красителя Hoechst 33342 для визуализации ядер в течение 20 минут, после чего тщательно отмывали предметные стёкла буферным раствором. Исследование проводили после полного высыхания поверхности предметного стекла с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Olympus IX53 (Olympus Corporation, Япония).

Постановка теста активации тучных клеток. В асептических условиях отбирали  $2 \times 10^5$  культивируемых клеток и помещали в 24-луночный планшет. К клеточной суспензии добавляли исследуемую сыворотку в соотношении 1:4. С целью по-

вышения чувствительности ТК к перекрёстному связыванию sIgE/FcεRI добавляли ИЛ-33 (100 нг/мл) [16]. Планшет помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор при 37°C в 5% атмосфере CO<sub>2</sub> на 1 сутки. Далее клеточную суспензию инкубировали с отрицательным контролем (буферный раствор DPBS), положительным контролем (моноклональное антитело к IgE (клон 4H10), 1 мкг/мл) и исследуемым аллергеном в термостате при 37°C в течение 1 часа. Рабочие растворы исследуемых аллергенов готовили из коммерческих реагентов («Алкор Био» (Россия) и «Dr. Foocke» (Германия)) в разведении 1:100 в буферном растворе. По истечении времени инкубирования в каждую пробирку добавляли смесь моноклональных антител и зонда для определения жизнеспособности: CD63 – FITC, клон MEM-259 (ExBio, Чехия), CD203c – PE, клон NP4D6 (ExBio, Чехия), CD117 – APC-Cy7, клон 104D2 (ExBio, Чехия), 7-AAD (Cayman Chemical Company, США). Учёт результатов на проточном цитометре CytoFlex LX (Beckman Coulter, США).

**Статистический анализ.** Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи программ Statistica версии 14.0.0.15 (StatSoft, США), MedCalc версии 20.104 (MedCalc Software, Бельгия). Значения показателей представлены в виде среднего значения и Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й процентилей. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы. Для определения диагностической ценности показателей был использован метод ROC-анализа с расчётом площади под рабочей характеристической кривой (AUROC). В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

Культивирование ТК. В качестве источника клеток-предшественников для дифференцировки в ТК были выбраны ГСК пуповинной крови в связи с лёгкостью получения биоматериала как для научных исследований, так и для практического применения в дальнейшем. Всего в исследовании было задействовано 10 образцов пуповинной крови объёмом от 8 до 47 мл. Предварительно образцы были оценены по содержанию CD45<sup>lo</sup>CD34<sup>+</sup> на проточном цитометре. Содержание ГСК в образцах составляло 0,33(0,23-0,58)% от общего количества CD45<sup>+</sup>клеток. Далее проводили иммуномагнитную сепарацию с

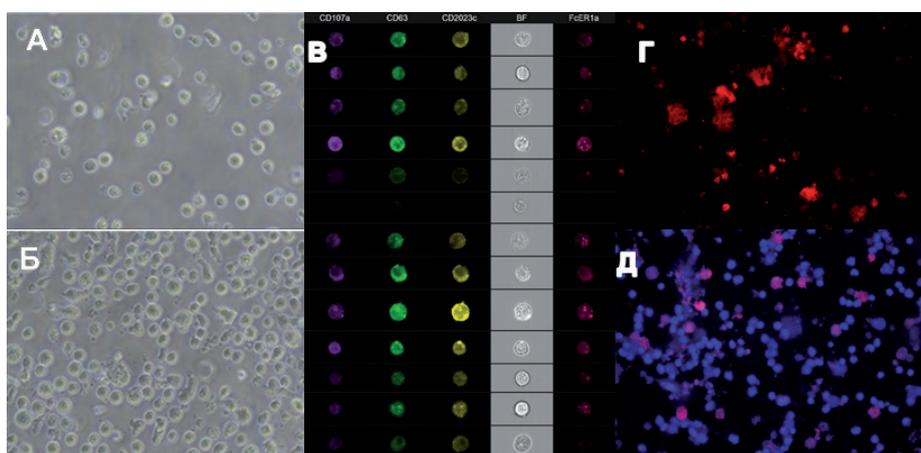
помощью набора для положительной селекции CD34<sup>+</sup>-клеток. Количество выделенных ГСК значительно варьировало, учитывая разный объём образцов пуповинной крови и начальное содержание ГСК в образце, и составило 0,86(0,36-2,1)×10<sup>6</sup> (минимальное количество – 100 тыс. клеток, максимальное – 3,9 млн клеток).

На протяжении всего культивирования ГСК использовали бессывороточную среду StemPro-34 SFM, адаптированную для экспансии и дифференцировки ГСК. Концентрация клеток контролировалась на уровне от 1,0 до 5,0×10<sup>5</sup> в 1 мл. Критически важным цитокином для культивирования ГСК является Stem Cell Factor (SCF), или так называемый фактор стволовых клеток [14]. Данный цитокин является лигандом рецептора c-Kit или молекулы CD117, которая экспрессируется на поверхности ГСК и тучных клеток. Установлено, что цитокин SCF *in vitro* индуцирует выживание ТК, их адгезию к внеклеточному матриксу и дегрануляцию, что приводит к экспрессии и высвобождению гистамина, провоспалительных цитокинов и хемокинов [15]. Также для культивирования ГСК использовался провоспалительный цитокин ИЛ-6, который, как считается, помогает поддерживать рост и созревание ТК, а также предотвращает их апоптоз [16]. Цитокин ИЛ-3, мультипотентный колониестимулирующий гематопоетический фактор, стимулирует рост и пролиферацию ГСК. Показано, что ИЛ-3 является одним из важнейших цитокинов для регуляции роста и дифференцировки ТК [17]. Учитывая, что цитокин ИЛ-3 является одним из самых важных факторов для экспансии ГСК, начальная концентрация данного цитокина

составила 100 нг/мл, при этом на протяжении первых 14 суток культивирования наблюдалась выраженная пролиферация клеток. Затем концентрацию ИЛ-3 довели до 10 нг/мл с целью эффективной дифференцировки ГСК в ТК.

Культивирование ТК проводили на протяжении 6 недель со сменой половины объёма питательной среды и цитокинов каждые 3-4 дня. Проллиферативная активность ГСК отличалась вариативностью среди образцов пуповинной крови. В случае, если экспансия стволовых клеток в течение 7 суток культивирования была менее, чем в 4 раза от исходного количества выделенных ГСК, данный образец отбраковывался. Таким образом, в работу было включено 7 из 10 образцов с кратностью увеличения клеток от 6 до 12 раз от исходного количества клеток при культивировании в течение недели.

Морфологический контроль дифференцировки проводили с помощью инвентированного светового микроскопа. По мере дифференцировки и роста клеток отмечалось также увеличение размеров клеток. Среднее значение размеров ГСК до 10 суток культивирования составило 10,9(8,7-13,5) мкм, в то время как размер клеток после 40 суток культивирования составил 16,5(12,3-28,1) мкм (p<0,05) (рис. 1А, 1Б). С помощью визуализирующего проточного цитометра Amnis ImageStreamX mkII установлена экспрессия популяционного (линейного) маркера CD203c и маркеров дегрануляции CD63 FITC и CD107a APC культивируемыми ТК (рис. 1В). Иммунофлуоресцентную микроскопию проводили на 14-е сутки культивирования с целью визуализации экспрессии линейного маркера CD203c на ТК (рис. 1Г и 1Д).



**Рис. 1. Визуализация культивируемых клеток: А – микрофотография ТК на 22-е сутки, 40×; Б – микрофотография ТК на 35-е сутки, 40×; В – оценка маркеров тучных клеток CD107а, CD63 и CD203с с помощью визуализирующего проточного цитометра; Г – иммунофлуоресцентное окрашивание по маркеру CD203с (PE, красным цветом); Д – иммунофлуоресцентное окрашивание по маркеру CD203с (PE, красным цветом) в сочетании с окрашиванием ядра Hoechst 33342 (синим цветом)**

На протяжении культивирования проводили иммунофенотипирование клеток на проточном цитометре для того, чтобы определить направленность дифференцировки и оценить функциональную зрелость клеток. Оценивали экспрессию некоторых лимфоидных и миелоидных маркеров, характерных для лимфоцитов и моноцитарно-макрофагальных линий клеток, а также маркер стволовых клеток: CD13, CD14, CD34, CD193, CD294, HLA-DR (рис. 2А, 2Б, 2В, 2Г, 2Д, 2Е). Показано, что к 14 суткам культивирования данные маркеры не регистрировались, экспрессия антигенпрезентирующей молекулы HLA-DR также исчезает ко второй неделе культивирования. При этом более 95% клеток на протяжении культивирования экспрессировали панлейкоцитарный антиген CD45 (рис. 2Ж).

Учитывая, что молекула CD117 является линейным маркером ГСК и ТК, экспрессия данного рецептора наблюдалась на протяжении всего культивирования клеток в той или иной интенсивности (рис. 2З). Считается, что молекула CD117 может интернализироваться в клеточную мембрану при высокой концентрации цитокина SCF в среде культивирования [18]. Данное явление нами также наблюдалось при добавлении в культуру клеток рекомбинантного цитокина SCF в экспериментальной концентрации 200 нг/мл, однако при снижении концентрации SCF до 100 нг/мл экспрессия молекулы CD117 восстанавливалась (двукратное повторение исследования, расчёт достоверности не представлен). Установлено, что начиная с 14 суток культивирования более 40% клеток экспрессировали популяционный маркер для ТК CD203c (рис. 2И, 2К).

С целью оценки способности к ответу на аллерген-специфические стимулы оценивали экспрессию рецептора FcεRI культивированными ТК. Установлено, что экспрессия высокоаффинного рецептора к IgE можно наблюдать уже на 14-е сутки культивирования, однако интенсивность экспрессии резко возрастает, начиная с 6-ой недели культивирования после добавления фетальной бычьей сыворотки (рис. 2Л, 2М). ТК считались зрелыми для использования с целью постановки МАТ при уровне экспрессии FcεRI не менее 50% на двойных позитивных клетках CD117<sup>+</sup>CD203c<sup>+</sup>. В совокупности полученные данные по поверхностному иммунофенотипу культивируемых клеток указывают на то, что культуры относятся к линии ТК и могут быть использованы для оценки IgE-опосредованной активации в ответ на специфический стимул.

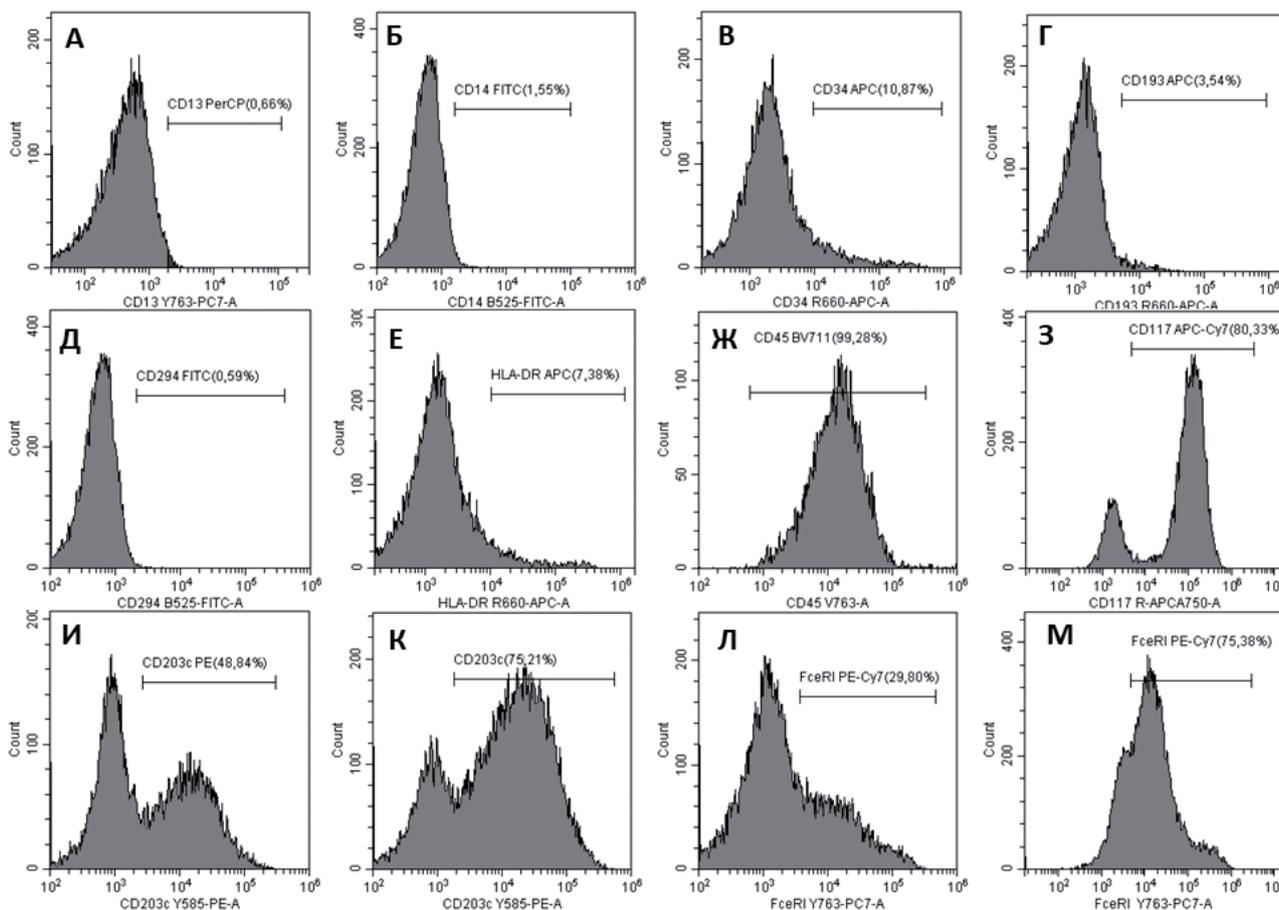
**Постановка теста активации ТК (МАТ).** В рамках проведённого исследования проведена постановка МАТ с использованием сыворотки периферической крови 45 пациентов, в анамнезе которых наблюдались реакции гиперчувствительности немедленного типа на следующие аллергены: берёза (n=16), арахис (n=9), домашняя пыль (n=11), рыба (n=4), яд перепончатокрылых (n=5). Контрольную группу составили 16 здоровых добровольцев, в анамнезе которых отсутствовали аллергические реакции по IgE-опосредованному механизму. Для постановки МАТ использовали сыворотку периферической крови пациентов, которую хранили при температуре -18°C до востребования. В качестве аллергенов использовали коммерческие растворы для постановки кожных проб компаний «Алкор Био» (Россия) и «Dr. Focke» (Германия).

Для проведения исследования осуществляли предварительную пассивную сенсibilизацию ТК сывороткой пациента в течение суток. После чего клетки отмывали в буферном растворе и инкубировали с активирующими веществами, включающими положительный контроль и разведения аллергенов. Благодаря положительному опыту использования неконъюгированного с флуорохромом моноклонального антитела к IgE (клон 4Н10) в тесте активации базофилов, данный вариант положительного контроля также использовали и для МАТ [19].

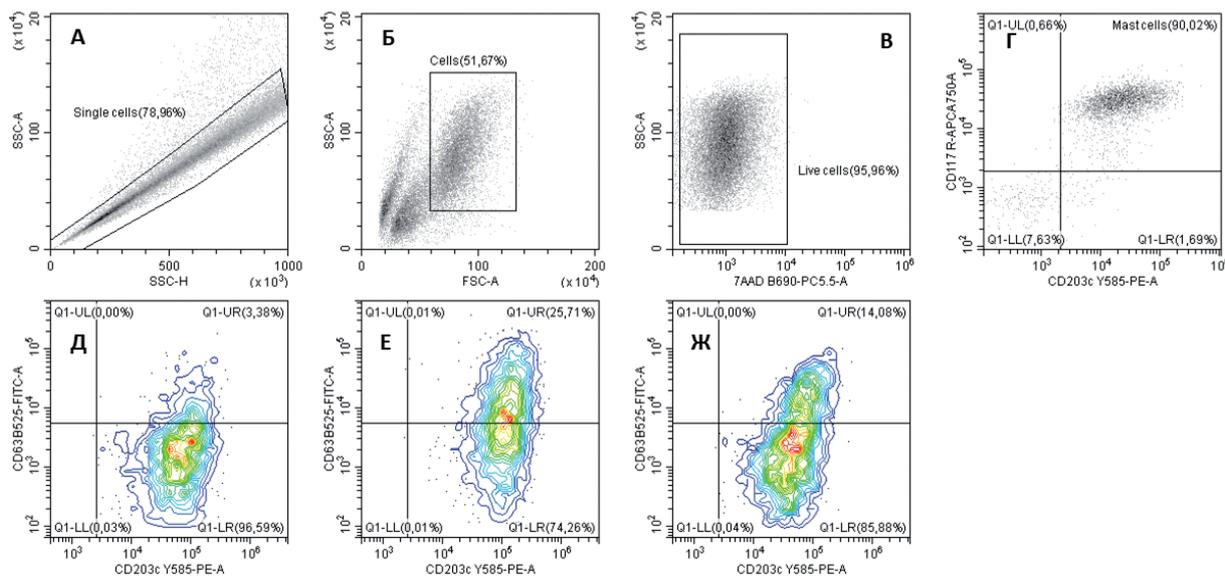
Анализ исследуемых образцов на проточном цитометре включал гейтирование ТК по маркерам CD117<sup>+</sup>CD203c<sup>+</sup> с добавлением зонда для оценки жизнеспособности 7-AAD. Далее производили оценку экспрессии молекулы CD63 в отрицательном контроле и в пробирке с аллергеном. Контроль качества исследования заключался в оценке значений показателя дегрануляции ТК CD63<sup>+</sup> при специфической активации в положительном контроле (IgE-контроль). При этом процент дегранулировавшихся ТК должен составлять не менее 20% (рис. 3).

Оценку полученных результатов проводили с помощью расчёта индекса активации (ИА), который представляет собой степень изменения экспрессии молекул, измеренную по соотношению значения экспрессии в пробе к её значению в отрицательном контроле. Так, для оценки маркера дегрануляции CD63 ИА рассчитывался по соотношению процентного содержания CD63<sup>+</sup> клеток в исследуемой пробе к CD63<sup>+</sup> клеткам в отрицательном контроле (ИА<sup>63</sup>) (рис. 4А).

Оценка чувствительности и специфичности диагностики аллергии методом тест активации ТК проводилась на основании значений ROC-



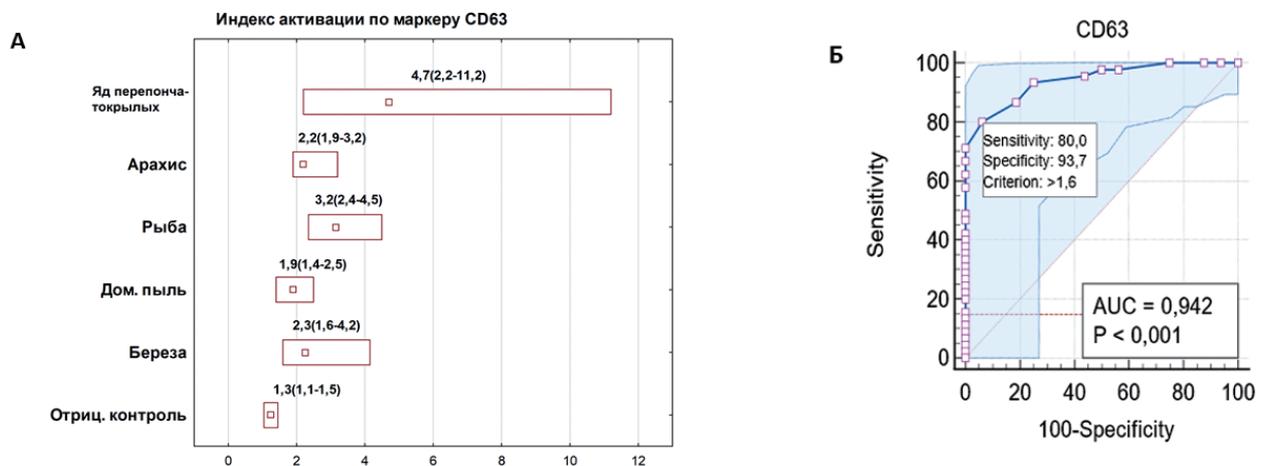
**Рис. 2.** Контроль иммунофенотипа ТК в процессе культивирования: А – экспрессия CD13 (14-е сутки); Б – экспрессия CD14 (14-е сутки), В – экспрессия CD34 (14-е сутки); Г – экспрессия CD193 (14-е сутки); Д – экспрессия CD294 (14-е сутки); Е – экспрессия HLA-DR (14-е сутки); Ж – экспрессия CD45 (14-е сутки); З – экспрессия CD117 (48-е сутки); И – экспрессия CD203c (14-е сутки); К – экспрессия CD203c (46-е сутки); Л – экспрессия FcεRI (21-е сутки); М – экспрессия FcεRI (50-е сутки)



**Рис. 3.** Учёт результатов МАТ: А – регион одиночных клеток; Б – регион тучных клеток по прямому и боковому светорассеянию; В – регион живых клеток; Г – гейтирование тучных клеток по молекулам CD203c и CD117; Д – экспрессия CD63 на тучных клетках в отрицательном контроле; Е – экспрессия CD63 на тучных клетках в положительном контроле; Ж – экспрессия CD63 на тучных клетках в пробе с аллергеном (Ara h1) у сенсibilизированного пациента

анализа для ИА маркера дегрануляции CD63. Была определена точка диагностически значимого уровня (cut-off-point, величина, используемая для разделения ряда значений на две части (т. е.

пациенты с аллергией и без неё) на уровне 1,6, при этом чувствительность составила 80,0%, а специфичность – 93,7%. Графически результаты представлены на рисунке 4Б.



**Рис. 4. Результаты расчета индекса активации в группах исследования (А) и ROC-кривая для оценки чувствительности и специфичности МАТ по маркеру CD63 (Б)**

### Заключение

В результате выполнения исследования разработан биотехнологический метод получения ТК из ГСК пуповинной крови для постановки МАТ. Для этого последовательно выделяют мононуклеары пуповинной крови, затем ГСК методом иммуномагнитной сепарации и культивируют клетки в бессывороточной среде с добавлением коктейля цитокинов ИЛ-3, ИЛ-6 и SCF. Выполнен иммунофенотипический и морфологический анализ культивируемых клеток. Установлено, что в соответствии с высокой экспрессией молекул CD117, CD203с, FcεRI данные культуры относятся к линии ТК и могут быть использованы для оценки IgE-опосредованной активации в ответ на специфический стимул.

Разработан протокол постановки теста активации ТК (МАТ), который включает этап предварительной пассивной сенсibilизации аллогенных ТК сывороткой пациента в течение суток. Затем после активации ТК стандартизованными аллергенами проводят оценку ответа ТК по экспрессии маркера дегрануляции CD63, отражающего IgE-опосредованный иммунный ответ на аллерген, с помощью проточной цитометрии. Статистически значимое усиление экспрессии

молекулы CD63, рассчитанное с помощью ИА  $\geq 1,6$ , указывает на положительный ответ теста активации ТК.

Впервые в Беларуси выполнена оценка диагностической значимости нового метода диагностики реакций немедленного типа для пациентов с установленной клинически значимой IgE-опосредованной сенсibilизацией. Показано, что метод МАТ является высокочувствительным методом диагностики IgE-опосредованных реакций, при этом, по нашим данным, чувствительность МАТ составила 80,0%, а специфичность – 93,7%.

Таким образом, метод МАТ может быть использован с целью диагностики патологических реакций IgE-опосредованной гиперчувствительности немедленного типа на пыльцевые, инсектные и пищевые аллергены. В частности, МАТ имеет место в ситуациях с неоднозначными результатами других лабораторных методов определения специфического IgE, противоречивыми данными между результатами лабораторных исследований, анамнезом и клинической картиной патологической реакции, а также в спорных случаях при наличии у пациента полисенсibilизации.

## Литература

- Galli S., Nakae S., Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* 2005; 6:135-142. doi: 10.1038/ni1158.
- Theoharides T.C., Kalogeromitros D. The Critical Role of Mast Cells in Allergy and Inflammation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006;1088:78-99. doi: 10.1196/annals.1366.025.
- Bradding P., Arthur G. Mast cells in asthma – state of the art. *Clin Exp Allergy.* 2016;46(2):194-263. doi: 10.1111/cea.12675.
- Hicks N.J., Crozier R.W.E., MacNeil A.J. JNK signaling during IL-3-mediated differentiation contributes to the c-kit-potentiated allergic inflammatory capacity of mast cells. *J. Leukoc. Biol.* 2023;114(1):92-105. doi: 10.1093/jleuko/qiad050.
- Arinobu Y., Iwasaki H., Gurish M.F., et al. Developmental checkpoints of the basophil/mast cell lineages in adult murine hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2005;102(50):18105-18110. doi: 10.1073/pnas.0509148102. Epub 2005 Dec 5.
- Hallgren J., Gurish M.F. Pathways of murine mast cell development and trafficking: tracking the roots and routes of the mast cell. *Immunol. Rev.* 2007;217:8-18. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00502.x.
- Arinobu Y., Iwasaki H., Akashi K. Origin of Basophils and Mast Cells. *Allergol. Int.* 2009;58(1):21-28. doi: 10.2332/allergolint.08-RAI-0067. Epub 2009 Jan 25.
- Elst J., Mertens C., Houdt V.M., et al. Flow Cytometry-Assisted Analyses of Individual Human Basophils, Mast Cells and T Cells in the Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity: A Review. *Allergy.* 2025; 80(5):1242-1255. doi: 10.1111/all.16548. Epub 2025 Apr 3.
- Li Z., Cai H., Liu Z., et al. Evaluation of the passive mast cell activation test for identifying allergens in perioperative anaphylaxis: a study protocol for a prospective diagnostic accuracy study. *BMJ Open.* 2024;14(6):e085212. doi: 10.1136/bmjopen-2024-085212.
- Ebo D.G., Heremans K., Beyens M., et al. Flow-based allergen testing: Can mast cells beat basophils? *Clin. Chim. Acta.* 2022;532:64-71. doi: 10.1016/j.cca.2022.05.014. Epub 2022 May 21.
- Mayorga C., Çelik G.E., Pascal M. Flow-based basophil activation test in immediate drug hypersensitivity. An EAACI task force position paper *Allergy.* 2024;79(3):580-600. doi: 10.1111/all.15957. Epub 2023 Dec 12.
- Ebo D.G., Bahri R., Eggel A., et al. Flow Cytometry-Based Basophil and Mast Cell Activation Tests in Allergology: State of the Art. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2025;155(2):286-297. doi: 10.1016/j.jaci.2024.11.023. Epub 2024 Nov 23.
- Elst J., Poorten M.-L. M. van der, Gasse A.L.V., et al. Mast cell activation tests by flow cytometry: A new diagnostic asset? *Clin. Exp. Allergy.* 2021;51(11):1482-1500. doi: 10.1111/cea.13984. Epub 2021 Jul 18.
- Möller C., Alfredsson J., Engström M., et al. Stem cell factor promotes mast cell survival via inactivation of FOXO3a-mediated transcriptional induction and MEK-regulated phosphorylation of the proapoptotic protein Bim. *Blood.* 2005;106(4):1330-1336. doi: 10.1182/blood-2004-12-4792. Epub 2005 Apr 26.
- Reber L., Silva C. A Da, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 2006;533(1-3):327-340. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.12.067. Epub 2006 Feb 17.
- Kirshenbaum A.S., Metcalfe D.D. Growth of Human Mast Cells From Bone Marrow and Peripheral Blood-Derived CD34+ Pluripotent Progenitor Cells. *Methods Mol. Biol.* 2006;315:105-112. doi: 10.1385/1-59259-967-2:105.
- Kritas S.K., Saggini A., Cerulli G., et al. Interrelationship between IL-3 and mast cells. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2014;28(1):17-21.
- Shimizu Y., Ashman L.K., Du Z., et al. Internalization of Kit together with stem cell factor on human fetal liver-derived mast cells: new protein and RNA synthesis are required for reappearance of Kit. *J. Immunol.* 1996;156(9):3443-3449.
- Романова И.В., Гончаров А.Е. Оптимизация условий проведения теста активации базофилов. *Изв. НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* 2017;4:48-59.

## Сведения об авторах

Романова Ирина Владимировна – к.м.н., старший научный сотрудник ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». E-mail: romanovairavlad@gmail.com.

Гончаров Андрей Евгеньевич – к.м.н., доцент, директор ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». E-mail: andreihancharov@gmail.com.

Рубан Анна Петровна к.м.н., доцент, заведующий отделением клеточной терапии ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». E-mail: annaruban7@yandex.ru

Шереметьева Ларина Зиновьевна – заведующий родовым отделением УЗ «3-я городская клиническая больница имени Е.В. Клумова», г. Минск.

Поступила 17.07.2025.