

6. Суржик А.В. Влияние пробиотической культуры *Lactobacillus rhamnosus* GG на иммунный ответ организма. Вопросы современной педиатрии. 2009, 2(8):54-58.
7. Урсова Н.И. Антибиотик-ассоциированная диарея: выбор пробиотика с позиций медицины, основанной на доказательствах. Трудный пациент. 2013, 2-3(11):22-28.
8. Geeta Shukla, Ramandeep Kaur Sidhu. *Lactobacillus casei* as a probiotic in malnourished *Giardia lamblia*-infected mice: a biochemical and histopathological study. Canadian J. Microbiol. 2011;57(2):127-135.
9. Huanlong Qin, Zhongwei Zhang, Xiaomin Hang et al. *L. plantarum* prevents Enteroinvasive *Escherichia coli*-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells. BMC Microbiology. 2009, 9:63-69.
10. Johnson-Henry K.C., Donato K. A., Shen-Tu G. et al. *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG Prevents Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-Induced Changes in Epithelial Barrier Function. Infect. Immun. 2008, 76(4):1340-1348.
11. Mitsuoka T. Establishment of Intestinal Bacteriology. Bioscience of Microbiot, Food and Health. 2014, 33(3):99-116.
12. Vizoso Pinto M.G., Rodriguez Gómez M., Seifert S. et al. *Lactobacilli* stimulate the innate immune response and modulate the TLR expression of HT29 intestinal epithelial cells in vitro. Int. J. Food. Microbiol. 2009 Jul 31, 133(1-2): 86-93.
13. Yujun Jiang, Xuena Lü, Chaoxin Man et al. *Lactobacillus acidophilus* Induces Cytokine and Chemokine Production via NF- $\kappa$ B and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Intestinal Epithelial Cells. Clin. Vaccine Immunol. 2012, 19(4):603-608.

*Поступила 08.12.18*

Контактная информация: Катаева Любовь Владимировна, к.м.н.,  
625026, Тюмень, ул. Республики, 147, р.т. (9097)40-50-74

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*В.М.Бержеиц<sup>1</sup>, А.А.Бабахин<sup>2</sup>, Н.С.Петрова<sup>1</sup>, А.В.Васильева<sup>1</sup>, С.В.Хлгатын<sup>1</sup>, О.Ю.Емельянова<sup>1</sup>*

## **НОВЫЕ ФОРМЫ КЛЕЩЕВЫХ АЛЛЕРГОИДОВ**

<sup>1</sup>НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, <sup>2</sup>ГНЦ Институт иммунологии, Москва

*Цель.* Разработка технологии приготовления полимерного аллергоида, полученного путем модификации формальдегидом экстракта *Dermatophagoides farinae* и мономерного аллергоида, полученного методом сукцинирования *Dermatophagoides pteronyssinus*, и изучение их физико-химических и иммунологических свойств. *Материалы и методы.* В обработанных формальдегидом препаратах определяли содержание белка, изоэлектрические точки белковых компонентов с помощью метода изоэлектрофокусирования (ИЭФ), эстеразную активность препаратов. Антигенные свойства клещевого аллергоида изучали методами иммунодиффузии и иммуноэлектрофореза. Для характеристики специфической активности клещевого аллергоида применяли микроточечный ИФА. Аллергоид, полученный методом сукцинирования, также был изучен по физико-химическим показателям. *Результаты.* Установлено, что в результате формализации происходит выраженное снижение аллергенной активности аллергоида. Также показано, что сукцинирование приводит к существенному снижению аллергенности мономерного аллергоида за счет блокады В-клеточных эпитопов и сохранению иммуногенности за счет Т-клеточных эпитопов. *Заключение.* Благодаря доказанному снижению аллергенности и повышению иммуногенности мономерные и полимерные аллергоиды могут быть рекомендованы для проведения аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

Журн. микробиол., 2019, № 3, С. 15—21

Ключевые слова: аллергенный экстракт, клещи домашней пыли, аллергенспецифическая иммунотерапия, формализация, сукцинирование, аллергоид, аллергенность, иммуногенность

## NEW FORMS OF HOME DUST MITE ALLERGOID

<sup>1</sup>Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, <sup>2</sup>State Scientific Centre Institute of Immunology, Moscow, Russia

*Aim.* The purpose of this study is to create the technology of preparation of the polymeric allergoid received by chemical modification of *Dermatophagoides farinae* extract by a formaldehyde and a monomeric allergoid of *Dermatophagoides pteronyssinus* received by succinilation and studying of their physical, chemical and immunologic properties. *Materials and methods.* In the modification species determined the protein content, isoelectric points of protein components by a method of isoelectrofocusing (IEF), esterase activity. Antigenic properties of allergoid studied by methods of an immunodiffusion and an immunoelectrophoresis. Applied microdot immunoenzyme assay to characterize the specific activity of a resulting allergoid. Received by a succinilation allergoid was also studied on physical and chemical indicators. *Results.* It is established that the formalinization is resulted by the expressed depression of allergenic activity of an allergoid. It is also shown that succinilation leads to essential depression of allergenicity of a monomeric allergoid due to blockade of B-cellular epitopes and to conservation of an adjuvanticity helps to T-cellular epitopes. *Conclusion.* Thanks to the proved depression of allergenicity and rising of an adjuvanticity monomeric and polymeric allergoid can be recommended for carrying out allergenspecific immunotherapy (ASIT).

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 3, P. 15—21

Key words: allergenic extract, home dust mite allergens, allergenspecific immunotherapy, formalinization succinilation, allergoid, allergenicity, immunogenicity

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время около 150 млн людей в Европе и до 1 млрд в мире страдают аллергическими заболеваниями. По оценке Всемирной Организации Аллергии (WAO) данные заболевания охватывают 30 — 40% населения. Европейская академия аллергии и клинической иммунологии прогнозирует, что через 15 лет более 50% населения Европы будет страдать от той или иной формы аллергии [10, 14]. Тенденция распространения данной патологии сохраняется на протяжении последних лет и за рубежом, и у нас в стране. По данным статистики из разных источников той или иной формой аллергии страдает от 17,5% до 30% населения России [7]. Основным сенсibiliзирующим компонентом жилища человека, инициирующим формирование атопических заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, являются пироглифидные клещи рода *Dermatophagoides*. Во всем мире примерно 10—20% населения и 90% больных бронхиальной астмой имеют гиперчувствительность к клещам домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*, чья причинно-значимая роль в появлении симптомов атопических аллергических заболеваний достоверно установлена [15, 16]. Клещи домашней пыли являются основной причиной таких аллергических заболеваний, как бронхиальная астма, круглогодичный ринит и атопический дерматит [17, 18]. Поэтому необходима разработка новых эффективных подходов к терапии и профилактике аллергических состояний, вызванных сенсibiliзацией к ним. Единственным патогенетическим методом лечения атопических заболеваний на данный момент является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ) [1]. Настоящее и будущее АСИТ связано с повышением ее безопасности и эффективности, в связи с чем современные исследования направлены на разработку новых усовершенствованных препаратов.

Изначально для проведения АСИТ использовали водно-солевые экстракты (ВСЭ) из культуры клещей. Но главными недостатками таких препаратов были их

высокая аллергенность и слабые иммуногенные свойства. Снижение аллергенности и повышение иммуногенности препаратов путем модификации различными химическими агентами всегда являлось актуальным направлением в разработке современных форм для проведения АСИТ. Изначально были получены алергоиды — препараты аллергенов, полимеризованных формальдегидом и глутаральдегидом. Снижение аллергенности (блокада IgE-связывающих эпитопов альдегидными группами) и одновременное усиление иммуногенности модифицированных препаратов достигалось за счет увеличения молекулярной массы и устойчивости к влиянию денатурирующих агентов, с чем связан также пролонгирующий эффект [6,9]. Полимеризованные аллергены по сравнению с нативными экстрактами аллергенов более интенсивно стимулируют увеличение циркулирующих Treg при АСИТ [19]. Из литературных источников известно о выраженном снижении аллергенности ВСЭ после их полимеризации [5,8,11]. В дальнейшем модификация аллергенов проводилась различными химическими агентами, с помощью которой получали мономерные препараты. Данные алергоиды могут быть получены путем сукцинирования (обработка янтарным ангидридом), малеинирования (обработка малеиновым ангидридом), карбомилирования (реакция с цианатом калия) различных аллергенных экстрактов [9,12,13]. Мономерные алергоиды обладают необходимыми для АСИТ характеристиками: сниженная гипоаллергенность и высокая иммуногенность. Рост аллергических заболеваний среди населения диктует необходимость постоянного совершенствования различных форм лечебных препаратов аллергенов.

Цель данного исследования — разработать технологии приготовления полимерного алергоида, полученного путем модификации формальдегидом экстракта *Dermatophagoides farinae* и мономерного алергоида, полученного методом сукцинирования, *Dermatophagoides pteronyssinus*, и изучить их физико-химические и иммунологические свойства.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Ранее была разработана технология получения алергоида из клещей *D. farinae*, а также изучены его физико-химические и иммунологические свойства. Модифицированные формы клещевого аллергена получали путем обработки клещевого экстракта формальдегидом (одноэтапный метод по Marsh D., 1970) и глутаровым альдегидом (методом Nakada Sh., 1985). Определяли содержание белка (по Sedmak J., 1977), изоэлектрические точки белковых компонентов клещевого аллергена и алергоида с помощью метода изоэлектрофокусирования (ИЭФ) в агарозном геле, эстеразную активность препаратов спектрофотометрически по начальным скоростям гидролиза синтетического субстрата — этилового эфира бензоил-L-аргинина (по методу Пасхина Т.С., 1968). Проводили гель-фильтрацию на сефарозе G-100 и сефакриле S-300. Антигенные свойства клещевого алергоида изучали методами иммунодиффузии (Ouchterlony O., 1958) и иммуноэлектрофореза (Аксельсен Н., 1977). Реакцию активной системной анафилаксии воспроизводили на морских свинках (метод Титова С.М., 1973). Для изучения аллергенных свойств препаратов использовали сыворотки больных с сенсибилизацией к клещам *D. farinae*. Для характеристики специфической активности клещевого аллергена и алергоида применяли микроточечный ИФА (МТИФА) (Михайлов А.Г., 1991). Степень снижения аллергенности модифицированного формальдегидом препарата оценивали с помощью метода, основанного на количественном определении гистамина в условиях *in vitro* с помощью спектрофлуориметрического метода (Shore P., 1959).

На настоящий момент отработана технология получения модифицированной формы аллергена в виде мономерного алергоида (sD1) на основе водно-солевого экстракта из клещей *D. pteronyssinus* методом сукцинилирования. Данная технология основана на модификации специфических белков путем сукцинилирования е-групп лизина, приводящего к «разворачиванию» белковой молекулы. Клещевой экстракт получен согласно действующему регламенту ФСП ЛП-000701, отвечающему требованиям ОФС 1.7.1.0001.15., и на основании патента RU №2331437 (НИИВС им.И.И. Мечникова). Лиофилизированный экстракт модифицирован сукцинилированием янтарным ангидридом (сD1).

В раствор D1 (концентрация 1–5% по общему белку) при pH 8,5–9 и комнатной температуре вводили порциями янтарный ангидрид (ЯА) при массовом соотношении ЯА: белок = 1:1, непрерывно поддерживая указанный pH. После стабилизации pH (окончание реакции) раствор диализовали и лиофильно высушивали. Степень модификации определяли количественно по реакции с ТНБС (2,4,6-тринитробензолсульфоуксидная кислота). Концентрации белка в полученных образцах измеряли методом Бредфорда. С целью анализа белков в нативном (D1) и модифицированном экстрактах (sD1) использовали стандартную методику электрофореза. Эквивалентные количества D1 и sD1 (по общему белку) после растворения в буфере образца и денатурирования вносились в объеме 10 мкл в 15% полиакриламидный гель. Электрофорез проводили в камере VE-10(Helicon) при ограничении напряжения 200 вольт в течение 1,5 ч. Проявление производили красителем Coomassie Brilliant Blue. В качестве контроля молекулярной массы использовали стандартные маркеры SeeBlue (Thermo Fisher Scientific) и PageRuler (Thermo Fisher Scientific).

Для выявления присутствия в экстракте D1 мажорного аллергена Der p 1 был получен его масс-спектр на масс-спектрометре Agilent 6460 (USA) при помощи использования ионизации электроспреем — Electro Spray Ionization (ESI). Для оценки изменений третичной структуры белковых молекул использован метод спектрального кругового дихроизма (КД). Образцы экстракта D1 и модифицированного производного sD1, как и главного аллергена Der p 1 и его сукцинилированной формы sDer p 1 растворяли в PBS. Изучение аллергенности sD1 проводили методом торможения реакции связывания аллерген-специфического IgE, используя пуллированную сыворотку от 5 больных с сенсibilизацией к *D. pteronyssinus* (III–V классов). Оценку иммуногенности D1 и sD1 осуществляли на мышах-самках линии BALB/c. Мышей BALB/c иммунизировали внутривенно четырехкратно с интервалом в 3 нед. D1 или sD1 в дозе 100 мкг/мышь (по белку) как без адьюванта, так и с адьювантом — Al(OH)<sub>3</sub> (в дозе 2 мг/мышь).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение клещевого аллергена, модифицированного глутаровым альдегидом, показало, что данная обработка не привела к увеличению молекулярной массы и не вызвала значительных изменений pI белков по сравнению с немодифицированным препаратом. Дальнейшие исследования были связаны с модификацией клещевого аллергена с помощью формальдегида. ИЭФ образцов исходного сырья и алергоида позволил выявить различие в значениях pH белковых фракций этих препаратов. Было обнаружено, что фракции немодифицированного аллергена более гетерогенны по заряду и располагаются в нейтральной и кислой областях pH. Фракции алергоида фокусировались в более кислых значениях pH. Различия в результатах ИЭФ обусловлены взаимодействием формальдегида с положительно заряженными группами белковых компонентов аллергена, при котором происходит изменение суммарного поверхностного заряда. Проведение гель-фильтрации образцов натив-

ного и модифицированного клещевых аллергенов на колонке с Сефакрилом S-S00 показало, что оба образца элюировали одним пиком, однако максимум кривой элюции аллергоида был несколько сдвинут в более высокомолекулярную область, но при этом объем его выхода был несколько меньше. Это связано с конформационными преобразованиями белковых компонентов клещевого аллергена в результате их взаимодействия с формальдегидом. Определение эстеразной активности показало ее значительное снижение после обработки клещевого аллергена формальдегидом. Клещевой аллергоид сохранил лишь 8% активности исходного клещевого аллергена. Изучение антигенных свойств клещевого аллергена и аллергоида проводили иммунохимическими методами с использованием полученных кроличьих антисывороток. Результаты реакции двойной радиальной иммунодиффузии в агаровом геле показали, что каждый препарат формирует отчетливые преципитаты с гомологичными антисыворотками. Выраженное взаимодействие клещевого аллергена с антиаллергоидной сывороткой указывало, что в антиаллергоидной сыворотке присутствуют антитела, сходные по специфичности с антителами, присутствующими в сыворотке животных, иммунизированных нативным клещевым аллергеном.

Для получения мономерного аллергоида экстракт клещей домашней пыли *D. pteronissinus* (D1) модифицировали сукцинированием, после чего определяли степень модификации и концентрацию белка. Сукцинирование связано с модификацией  $\epsilon$ -групп лизина белка, что приводит к разворачиванию белковой молекулы. Степень модификации экстракта D1 составила 98,9%. Концентрация общего белка в образцах D1 и модифицированного сукцинированием экстракта (sD1) составляла соответственно 17,71 и 63,25 мкг/мг. В модифицированном препарате увеличение концентрации белка происходило за счет диализа после процесса модификации. По результатам электрофореза можно сделать вывод, что модификация D1 существенно не влияет на размер молекул белка в экстракте. Основное количество вещества принадлежит двум фракциям — низкомолекулярной и фракции порядка 12—13 кДа. Масс-спектрометрический анализ образца D1 выявил характеристические значения  $m/z$  (отношение массы к заряду), которые свидетельствуют о присутствии  $\text{Der p 1}$  в экстракте D1. Изучение аллергенности sD1 показало, что модификация экстракта D1 путем сукцинирования приводит к существенному ее снижению. Методом ИФА и хемилюминесцентного анализа показано, что связывание специфического анти- $\text{Der p IgE}$  с sD1 выражено более существенно, чем с немодифицированным D1. Уровень гистамина, высвобождающегося из лейкоцитов крови больных с сенсibilизацией к *D. pteronissinus* после ее инкубации с sD1 был значительно ниже такового при инкубации с немодифицированным экстрактом D1. Для высвобождения одного и того же количества гистамина требовалась концентрация sD1, в 100 раз превышающая концентрацию D1. При этом, как D1, так и sD1, взятые в широком диапазоне концентраций, не обладали гистамин-высвобождающим действием при инкубации с кровью доноров, не сенсibilизированных к  $\text{Der p}$ . Изучение иммуногенности sD1 в сравнении с D1 при иммунизации мышей BALB/c с адьювантом  $\text{Al(OH)}_3$  или без него выявило ожидаемые изменения, характерные тем, что получены ранее при использовании модельного аллергена овальбумина. При иммунизации мышей D1 или sD1 без адьюванта выраженный анти- $\text{Der p IgE}$ -ответ наблюдался только после четвертой иммунизации, причем у мышей, иммунизированных немодифицированным D1, он был значительно выше такового при иммунизации sD1. При иммунизации мышей sD1 с адьювантом  $\text{Al(OH)}_3$  анти- $\text{Der p IgE}$ -ответ даже после 4 иммунизации был существенно ниже такового, чем при иммунизации D1 с  $\text{Al(OH)}_3$ . Анти- $\text{Der p IgG1}$ -ответ при иммунизации sD1 без адьюванта был выше такового при иммунизации только D1, а при иммунизации D1 и sD1 с адьювантом уровень анти- $\text{Der p IgG1}$

были сходными после 2 и последующих иммунизаций. В то же время, уровень анти-Der p IgG2a, начиная с 3 иммунизации, был существенно выше при иммунизации sD1 по сравнению с иммунизацией D1 как с адьювантом, так и без него.

Одной из главных задач данного исследования являлось получение модифицированного полимерного препарата клещевого аллергена путем его формализации. Результатом модификации нативного аллергена является образование химических связей в виде внутримолекулярных метиленовых «мостиков», что приводит к химическим и конформационным изменениям компонентов клещевого аллергена. С помощью методов МТИФА и количественного определения гистамина, секретиремого тучными клетками крысы, установлено что, в результате формализации снижается способность клещевого алергоида взаимодействовать со специфическими к немодифицированному клещевому аллергену IgG антителами животных и IgE антителами человека. Это доказывает значительное снижение аллергенной активности модифицированного препарата. При этом иммуногенные свойства клещевого алергоида сохранены, и препарат способен индуцировать выработку антител, специфичных к немодифицированному клещевому аллергену. Совокупность данных, полученных в работе, свидетельствует о том, что данная форма модификации водно-солевого аллергена может быть использована для приготовления лечебного алергоида путем формализации.

Из данных литературных источников, посвященных химической модификации аллергенов, известна возможность модификации аллергена путем точечной блокады  $\epsilon$ -групп лизина в молекуле белка за счет конъюгации с носителем, которая приводит к заметному снижению аллергенности при сохраненной иммуногенности [2]. В ходе исследований стало очевидно, что блокаду  $\epsilon$ -групп лизина можно осуществить ацилированием путем прямого воздействия, например, янтарного ангидрида. Используя модельный аллерген овальбумин, показано, что обработка янтарным ангидридом (сукцинирование) приводила к существенному снижению аллергенности за счет блокады В-клеточных эпитопов и сохранению иммуногенности за счет Т-клеточных эпитопов, в значительно меньшей степени подвергнутых модификации. Экспериментальная АСИТ сукцинированным овальбумином (ОА) на мышинных моделях бронхиальной астмы и атопического дерматита показала более выраженный терапевтический эффект по сравнению с АСИТ немодифицированным ОА при лучшем профиле безопасности за счет пониженной аллергенности [3,4]. Данный подход (сукцинирование) теоретически может быть применен к любому аллергенному экстракту, что расширяет возможности создания новых препаратов мономерных алергоидов для безопасной и эффективной АСИТ. В данном исследовании использован экстракт из клещей домашней пыли *D. pteronyssinus*, подвергнутый модификации сукцинированием с целью получения мономерного алергоида. Показано, что аллергенность (IgE-связывающая активность) сукцинированного экстракта sD1 значительно ниже таковой у немодифицированного, причем иммуногенность в плане индукции антиаллергенных (анти-Der p) антител субклассов G1 и G2a была даже несколько выше, чем у немодифицированного экстракта D1. Таким образом, полученный гипоаллергенный мономерный алергоид из клещей домашней пыли *D. pteronyssinus* может служить примером разработки препаратов алерговакцин для безопасной и эффективной АСИТ. То обстоятельство, что сукцинированный экстракт sD1 сохраняет мономерность, является очень важной характеристикой, позволяющей использовать такие препараты алерговакцин для сублингвальной АСИТ. Предполагают, что мономерные алергоиды могут быть рекомендованы для проведения сублингвальной АСИТ, а полимерные алергоиды — для классической инъекционной АСИТ. Это связано с тем, что полимерные

аллергоиды (полученные обработкой альдегидами) значительно труднее проникают через слизистую мембрану из-за большого размера конгломератов, состоящих из 150—250 отдельных белковых молекул [2].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Астафьева Н.Г., Гамова И.В., Удовиченко Е.Н. и др. Место аллергенспецифической иммунотерапии в лечении атопии. *Consilium medicum*. 2013, 3:55-61.
2. Бабахин А.А., Ласкин А.А., Смирнов В.В., Андреев С.М., Бабиевский К.К., Гушин И.С., Хаитов М.Р. Мономерный аллергоид из клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus*: иммунологические свойства. *Российский аллергологический журнал*. 2016, 4(5):29-36.
3. Бабахин А.А., Литвин Л.С., Стеценко О.Н. и др. Аллерген-специфическая иммунотерапия химически модифицированными аллергенами. Часть 2. Гипосенсибилизация аллерготропином (комплексом мономерного аллергоида и иммуномодулятора полиоксидония) на модели экспериментальной аллергической бронхиальной астмы. *Физиология и патология иммунной системы*. 2011, 11:3-22.
4. Бабахин А.А., Шершакова Н.Н., Камышников О.Ю. и др. Аллерген-специфическая иммунотерапия химически модифицированными аллергенами. Часть 3. Эффективность аллергенной иммунотерапии мономерным аллергоидом, адьювантированным липидированным экзополисахаридом из *Shigella sonnei*, на экспериментальной модели атопического дерматита. *Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика*. 2014, 9:3-26.
5. Игнатов А.А., Раменская Г.В., Смирнов В.В. Современные основы стандартизации препаратов аллергенов. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015, 1:16.
6. Курбачева О.М., Ильина Н.И. Лечение аллергического ринита: когда, как и зачем? *Российский аллергологический журнал*. 2006, 2:66-75.
7. Матвеева Л.П., Ермакова М.К. Экспертиза лечения поллиноза у детей аллергоидами и аллергенами. *Проблемы экспертизы в медицине*. 2006, 3:42-44.
8. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В. и др. Аллерготропин для лечения поллинозов и способ лечения поллинозов. Описание изобретения к патенту №2205661 от 13.07.2001г. 2001:1-5.
9. Cirkovic T.D., Bukilica M.N., Gavrovic M.D. et al. Physicochemical and immunologic characterization of low-molecular weight allergoids of *Dactylis glomerata* pollen proteins. *Allergy*. 1999, 54:128-134.
10. Jarvis D., Newson R., Lotval J. et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: The GA2LEN survey in Europe. *Allergy*. 2012, 67:91-98.
11. Lockey R.F. «ARIA»: global guidelines and new forms of allergen immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunology*. 2001, 108:497-499.
12. Mistrello G., Brenna O., Roncarolo D. et al. Monomeric chemically modified allergens: immunologic and physicochemical characterization. *Allergy*. 1996, 51:8-15.
13. Mistrello G., Roncarolo D., Zanoni D. et al. Allergic relevance of *Cupressus arizonica* pollen extract and biological characterization of the allergoid. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002, 129:296-3004.
14. Papadopoulos N.G., Agache I., Bavbek S. et al. Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA. *Clinical and Translational Allergy*. 2012, 2:1-3.
15. Platt-Mills T.A. The future of allergy and clinical immunology lies in evaluation, treatment and research on allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002, 110:565-566.
16. Platt-Mills T.A., Ervin E.A., Heymann P.W., Woodfolk J.I. Pro: The evidence for a causal role of dust mites in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009, 180:109-121.
17. Platts-Mills T.A., Carter M.C. Asthma and indoor exposure to allergens. *N. Engl. J. Med.* 1997, 336:1382-1384.
18. Sporic R., Chapman M.B., Platts-Mills T.A. House dust mite exposure as a cause of asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 1992, 22:897-906.
19. Urry Z.L., Richards D.F., Black C. et al. Depigmented-polymerised allergoids favour regulatory over effector T cells: enhancement by  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D3. *BMC Immunol. PabMed*. 2014. doi: 10.1186/1471-2172-15-21.

*Поступила 18.12.18*

Контактная информация: Бержец Валентина Михайловна, д.б.н., 105064, Москва, М.Казенный пер., 5а, р.т. (495)917-49-00