

УДК: 616-022.9-053.2-036.22:612.017.1:613.287.5

**Т.Р. Уманець¹, О.Г. Шадрін¹, В.А. Клименко²,
С.Л. Няньковський³, О.М. Ащеулов², О.С. Няньковська³**

Основні положення настанов з ведення хворих з алергією до коров'ячого молока. Частина 1. Епідеміологія та алергени коров'ячого молока

¹ ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», м. Київ, Україна

² Харківський національний медичний університет, Україна

³ Львівський національний медичний університет, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA. 2015.1(65):16-22; doi 10.15574/SP.2015.65.16

У статті наведено перші чотири розділи керівництва Всесвітньої організації алергологів DRACMA (Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy), що стало прототипом для створення вітчизняних Наставов по веденню хворих з алергією до коров'ячого молока. Наставови розроблені робочою групою за ініціативи Асоціації алергологів, Асоціації дитячих гастроентерологів та нутриціологів, Асоціації імунологів, алергологів та імунореабілітологів України та за підтримки МОЗ України.

Ключові слова: алергія, коров'яче молоко, білки, епідеміологія.

В умовах реформування охорони здоров'я особливо значення набуває створення протоколів надання медичної допомоги при найбільш розповсюджених хворобах на засадах доказової медицини.

З 2014 року за ініціативи трьох громадських медичних асоціацій України (Асоціації алергологів, Асоціації дитячих гастроентерологів та нутриціологів, Асоціації імунологів, алергологів та імунореабілітологів) та за підтримки МОЗ України розпочата робота з розробки Протоколів щодо ведення хворих з алергією до коров'ячого молока (АКМ). Робочою групою створено Наставови на основі керівництва Всесвітньої організації алергологів «Діагностика та раціональні дії проти алергії до коров'ячого молока» (World Allergy Organization (WAO) – Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy – DRACMA). Основні положення керівництва DRACMA представлені у даній публікації для ознайомлення медичної спільноти та широкого обговорення.

Керівництво DRACMA створено групою експертів WAO під керівництвом Alessandro Fiocchi та Holger Schunemann, опубліковано у журналі WAO Journal (April, 2010, P. 57–161). Керівництво складається з 19 розділів та 4 додатків, що охоплюють основні теоретичні та практичні аспекти проблеми. У даній статті представлено перші чотири розділи:

1. Вступ.
2. Методологія.
3. Епідеміологія алергії до коров'ячого молока.
4. Алергени коров'ячого молока.

Розділ 1. Вступ

Підхід до вирішення проблеми АКМ у попередні десять років був дуже суперечливим [1,2], тому керівництво, що розроблено на підставі узагальнення попередніх досягнень, містить перегляд низки питань діагностики та лікування [3–8].

У 2008 році спеціальний комітет з харчової алергії WAO визначив АКМ як сферу, що потребує обґрунтування якісними клінічними дослідженнями. Створення керівництва DRACMA – відповідь на цю потребу. Укладачами та рецензентами керівництва були алергологи, педіатри, гастроентерологи, дерматологи, епідеміологи, дієтологи, нутриціологи та пацієнти – представники алергологічних організацій.

Керівництво призначено для лікарів практичної ланки медицини як доказова база, для науковців для визначення

сучасних напрямків досліджень та як інтерактивний контент для співпраці національних та міжнародних наукових товариств. І нарешті DRACMA присвячена пацієнтам, особливо молодшого віку, чий тягар ми сподіваємося полегшити шляхом постійних колективних зусиль, інтерактивних дискусій та навчання.

Визначення

Побічні реакції після прийому коров'ячого молока можуть виникнути у будь-якому віці, починаючи з народження, і навіть серед дітей, які знаходяться виключно на грудному вигодовуванні, але не всі такі реакції мають алергічну природу. Перегляд номенклатури алергічних захворювань було зроблено в Європі у 2001 р. [9] і пізніше схвалено WAO [10]. Відповідно до номенклатури, термін «гіперчутливість до молока» включає поняття неалергічної гіперчутливості («непереносимість») та алергічної гіперчутливості («алергія на коров'яче молоко»), у патогенезі якої є активація імунного механізму. У DRACMA термін «алергія» буде використовуватися згідно з визначенням WAO: «Алергія – це реакція гіперчутливості, яка обумовлена специфічними імунними механізмами».

У більшості дітей АКМ може бути IgE-опосередкованою і проявлятися фенотипово атопічним дерматитом, алергічним ринітом та/або астмою. У пацієнтів, що мають IgE-незалежну алергію (ймовірно, клітинно-опосередкований тип), АКМ представлена переважно шлунково-кишковими розладами.

Розділ 2. Методологія

Основні положення керівництва стали результатом міркувань усієї експертної групи. Для створення рекомендацій використовувався підхід GRADE [11–16].

Незалежною командою з членів робочої групи GRADE було проведено пошуки з конкретних клінічних питань в пошукових базах NCBI PubMed, EMBASE, UKCRN (the UK Clinical Research Network Portfolio Database), WHO ICTRP (the World Health Organization International Clinical Trials Registry Platform), mRCT (the metaRegister of Controlled Trials), The Cochrane Central Register of Controlled Trials, ISI Web of Science, Google Scholar. Були включені дослідження, опубліковані до вересня 2009 року, та розроблені GRADE профілі для клінічних питань на основі систематичних оглядів. Якість фактів оцінювалася на основі методологічних критеріїв GRADE системи і класифі-

кувалася як «висока», «помірна», «низька» або «дуже низька» [17].

Члени робочої групи DRACMA розглянули доказову базу щодо вирішення окремих питань та зробили рекомендації, які включають в себе розгляд якості доказів, переваги, недоліки та вартість [18,19]. Коли враховувалися вартість і витрати ресурсів, бралися до уваги регіональні особливості системи охорони здоров'я. Для окремих пацієнтів вартість може не бути проблемою, якщо стратегія лікування надається зі зниженою ціною або безкоштовно. Лікарі і пацієнти повинні розглянути свої місцеві фінансові особливості при інтерпретації цих вказівок [20].

Експерти DRACMA класифікували рекомендації як «суттєві» або «несуттєві». Сила рекомендацій залежить від балансу між усіма бажаними і небажаними ефектами від втручання, якості наявних даних, цінностей і переваг, вартості (використання ресурсів). Загалом, чим вища якість доказовості, тим більша вірогідність того, що рекомендація є суттєвою. Суттєві рекомендації, засновані на низькій або дуже низькій якості доказів, рідкісні, але вірогідні [21].

Для суттєвих рекомендацій використовуються слова «рекомендуємо», для несуттєвих рекомендацій — «пропонуємо».

Як використовувати рекомендації DRACMA

Основні положення DRACMA не створені для нав'язування стандартів медичної допомоги для окремих країн і юрисдикцій. Вони повинні забезпечити основу раціональних рішень для клініцистів і їхніх пацієнтів з АКМ. Лікарі, пацієнти, комітети, інші зацікавлені особи або суди не повинні розглядати ці рекомендації як диктування. Суттєві рекомендації, засновані на високоякісних доказах, застосовуватимуться для більшості пацієнтів, але за будь-яких обставин вони не можуть поширюватися на всіх пацієнтів. Ніякі рекомендації не можуть прийняти до уваги усі унікальні та індивідуальні особливості кожної клінічної ситуації. Тому ніхто не повинен застосовувати рекомендації від DRACMA відповідно до моди або беззаперечно слідувати їм.

Глава 3. Епідеміологія алергії до коров'ячого молока *Введення*

Приблизно 11–26 млн мешканців Європи страждають на харчову алергію (ХА) [22]. Якщо цю цифру перерахувати на кількість жителів планети (6,659,040,000 [23]), то ХА зустрічається у 220–520 млн людей та становить глобальну світову проблему здоров'я. Є дослідження стосовно особливостей перебігу та поширеності бронхіальної астми, алергічного ринокон'юнктивіту та екземи у дітей [24], але відсутні якісні наукові роботи щодо епідеміології ХА. Проблема ускладнюється тим фактом, що скарги пацієнта на наявність ХА не завжди насправді є ХА. Повідомлення про випадки ХА значно перевищують частоту випадків, коли алергія підтверджена у подвійних сліпих дослідженнях.

У 1980-х роках поширеність ХА серед дітей раннього віку, за результатами опитування матерів, становила від 17% [25] до 27,5% [26]. Тридцять відсотків матерів відмічали наявність ХА у них або членів їхніх сімей [27]. У наступній декаді в Британському дослідженні, де застосовано запитальник, випадки ХА виявлено у 19,9% [28].

Із середини 1990-х рр. розпочато порівняння кількості повідомлень про наявність ХА, що виявлена при опитуванні батьків, з випадками, коли діагноз підтверджено провокаційною пробою. Виявилося, що за повідомленнями частота ХА становить 12,4–25%, але діагноз підтверджено тільки у 1,5–3,5% випадків [29,30]. Подальші дослідження підтвердили, що поширеність ХА в популяції, що підтверджена провокаційними тестами, становить

2,3–3,6% [31,32]. Також лише у невеликій кількості суб'єктів алергія була підтверджена позитивним прик-тестом з тими алергенами, алергія на які виявлена при опитуванні [33].

Таким чином, коли розглядається питання епідеміології харчової алергії, розрізняють два аспекти проблеми:

1. Поширеність харчової алергії згідно з опитуванням пацієнтів. Насправді у більшості цих хворих алергії немає, але ці статистичні дані важливі для усвідомлення масштабів проблеми та організації медичної допомоги [34].
2. Справжню поширеність ХА, що підтверджена позитивним провокаційним тестом.

Харчова алергія частіше зустрічається в дитячій популяції. За даними мультицентрового дослідження (Японія), поширеність АКМ у новонароджених становить 0,21%, а серед дітей з екстремально низькою масою при народженні (менше 1000 гр.) — 0,35% [35].

Харчова алергія частіше зустрічається у дітей раннього віку (5–8%) порівняно із дорослими (1–2%) [36–38].

Проспективне дослідження 480 новонароджених протягом трьох років у США виявило наявність АКМ при опитуванні батьків у 28%, але підтверджена провокаційними тестами алергія була лише у 8% з появою протягом перших двох років у 2,27–2,5% [39,40].

Схожі дані отримані в Європейському дослідженні із залученням 44 000 телефонних контактів. При опитуванні у 5 млн респондентів (частіше жінок) виявлено АКМ. Відмічені значні національні відмінності у поширеності ХА: від 13,8% в Греції до 52,3% у Фінляндії. У цьому дослідженні молоко виявилось найбільш частим алергеном для дітей (38,5% усіх опитуваних) та було на другому місці у дорослих (26%) [41].

При опитуванні батьків 600 дітей віком до чотирьох років алергію виявлено у 18 (3%) пацієнтів [42]. Реакції на молоко відмічали у 2% дітей без «візінгу» та у 16%, що мали «візінг» [43].

Проведено метааналіз досліджень [44], що вивчали поширеність алергії останні 20 років методом опитування у дошкільнят [45–55], дітей шкільного віку (5–16 років) [56–60] та підлітків [61–67]. Виявлено поширеність алергії від 1 до 17,5% у дошкільнят, від 1 до 13,5% — у школярів та від 1 до 4% — у підлітків. Ці дані важливі для планування медичної та діагностичної служб, але не відображають істинну поширеність алергії.

Сенсибілізація до білків коров'ячого молока

R.J. Rona [68] на підставі метааналізу 7 досліджень встановлено поширеність сенсибілізації до БКМ: 0,5–2% — у дошкільнят, 0,5% — у дітей 5–16 років та менше 0,5% — у дорослих.

У когортному дослідженні 543 дітей від народження до 3 років (острів Уайт) сенсибілізацію до БКМ виявлено у 2 (0,37%) дітей віком 12 міс., у 5 (0,92%) дітей віком двох років та у 3 (0,55%) трирічних дітей [69].

У Німецькому мультицентровому дослідженні алергії 1314 дітей були під спостереженням від народження до 13 років. Серед них у 273 дітей визначали специфічні IgE до БКМ у віці 2, 5, 7 та 10 років. Встановлено прогресивне зменшення поширеності сенсибілізації з віком: від 4% у дітей двох років до менше 1% у віці 10 років [70].

Епідеміологія АКМ, що підтверджена провокаційним тестом

За останні 10 років було виконано п'ять досліджень, що відповідають високому рівню доказовості первинних даних, де АКМ підтверджена провокаційним тестом:

1. У Данії когорта 1749 новонароджених спостерігалась до 12-місячного віку. Встановлена алергія у 39 (2,22%) дітей [71], з них у 60% спостерігалась гастроінтестинальні симптоми, у 50–60% — ураження шкіри, у 20–30% — респіраторні симптоми та у 9% — анафілаксія. Серед дітей на грудному вигодовуванні алергію виявлено у 0,5% [72,73].
2. У Фінляндії 6209 новонароджених спостерігалися протягом 15 місяців. Алергію до коров'ячого молока виявлено у 1,9% та підтверджено подвійним сліпим плацебо-контрольованим провокаційним тестом.
3. У Норвегії 193 недоношених та 416 доношених новонароджених спостерігалися до 6-місячного віку. Алергію до коров'ячого молока діагностовано у 4,9% (27 з 555) дітей [74].
4. На острові Уайт (Велика Британія) когорта з 969 новонароджених спостерігалась протягом 12 місяців — діагностовано АКМ у 21 (2,16%) дітей, серед яких лише 2 (0,21%) мали IgE-залежну алергію [75].
5. У Нідерландах 1158 дітей досліджені проспективно протягом 12 місяців. З 18,2% дітей, що мали підозру на АКМ, діагноз підтверджено позитивними елімінаційним та провокаційним тестами у 2,24% (26 з 211) дітей [76].

Подібні дослідження також були виконані у Північній Європі та Іспанії, але методологія досліджень відрізнялася, оральний провокаційний тест не був стандартизований. Враховуючи дані проблеми, для встановлення справжньої поширеності АКМ Європейською комісією в 2005 році розпочато проект EuroPrevall Project (www.europrevall.org), що включає 60 організацій — дослідні інститути, організації пацієнтів, підприємства харчової індустрії у Європі, Росії, Гані, Індії та Китаї. У дослідження залучені діти та дорослі. Діагностика алергії проводиться подвійним сліпим плацебо-контрольованим тестом [77]. Дослідження повинно вирішити питання справжньої поширеності АКМ.

Клінічні прояви АКМ

Серед когорти новонароджених, що спостерігалися в Данії, у 60% виявлено гастроінтестинальні симптоми, у 50–60% — ураження шкіри, у 20–30% — респіраторні симптоми та у 9% — анафілаксію [78,79].

У Норвегії у дітей грудного віку алергія клінічно манифестувала больовим синдромом (48%), гастроінтестинальними симптомами (32%), респіраторними проблемами (27%) та atopічним дерматитом (4,5%) [80].

У когорті хворих з Фінляндії алергія клінічно проявлялась кропив'яркою (45,76%), atopічним дерматитом (89,83%), блювотою та/або діареєю (51,69%), респіраторними симптомами (30,50%) та анафілаксією (2,54%) [81]. Схожі прояви виявлено при проведенні орального провокаційного тесту: кропив'янка (51,69%), atopічний дерматит (44,06%), блювота та/або діарея (20,33%), респіраторні симптоми (15,25%) та анафілаксія (0,84%) [82].

У Британському дослідженні при проведенні орального провокаційного тесту виявлено: екзему (33%), діарею (33%), блювання (23,8%) та уртикарії у 2 дітей [83].

У дітей з Нідерландів з АКМ гастроінтестинальні симптоми мали місце у 50%, шкірні — у 31%, респіраторні — у 19% пацієнтів [84].

Таким чином, АКМ манифестує гастроінтестинальними симптомами — у 32–60%, симптомами з боку шкіри — у 4,5–90%, анафілаксії — у 0,8–9% хворих. Нерідкі респіраторні скарги (включаючи астму).

АКМ при різних нозологічних формах

У літературі також обговорюється поширеність АКМ у різних клінічних ситуаціях.

Так, позитивний специфічний IgE до БКМ виявлено у 3% серед 2184 дітей віком 13–24 місяців, що страждали на atopічний дерматит [85].

Серед 59 немовлят на грудному вигодовуванні, що страждали на АД середньої важкості, позитивний шкірний прик-тест відмічено у 5 (8,5%) дітей [86].

Серед дітей з АД середньої важкості, що консультовані дерматологом, позитивний прик-тест до БКМ виявлено у 16% випадків [87].

Серед дітей з АД із середнім віком 17,6 міс. у 37% (20/54) діагностовано АКМ. За даними дослідників, кожен третій пацієнт з АД має АКМ, з іншого боку, до 40–50% дітей до 1 року з АКМ мають АД [88].

Серед 90 дітей з IgE-залежною ХА у 17 виявлено АКМ [89].

Стосовно інших нозологічних форм, у проспективному дослідженні, де аналізувалися дані Британського Педіатричного Наглядового Центру (British Pediatric Surveillance Unit), серед 13 млн дітей Англії та Ірландії виявлено 229 випадків госпіталізації з приводу ХА (заявлено 176 лікарями з 133 відділень), що склало 0,89 на 100 000 дітей на рік. Серед тригерів ХА молоко посіло третє місце (10% пацієнтів) після арахісу (21%) та лісового горіха (16%) [90].

У Великій Британії серед 13 млн дітей до 16 років за останні 10 років зафіксовано 8 смертей з приводу анафілаксії (поширеність становить 0,006 на 100 000 дітей до 15 років на рік), у 4 з яких молоко було причинним алергеном [91].

Зміна поширеності АКМ з часом

Попри велику кількість різноманітних досліджень щодо епідеміології АКМ, немає даних щодо зміни поширеності з часом [92]. Ми маємо лише дослідження стосовно тенденцій у поширеності ХА. Так, англійські дослідники встановили підвищення частоти госпіталізацій на 1 млн популяції з 1990 по 2004 рік з приводу анафілаксії — з 5 до 26; з приводу ХА — 5 до 26; з приводу ХА у дітей — з 16 до 107 [93]. Поширеність екзему також зросла з 13% у 1991 р. до 16% у 2003 році [94].

Географічні тенденції в епідеміології АКМ

Немає вірогідної інформації щодо різниці поширеності АКМ у різних регіонах світу. Найбільш вірогідна інформація є стосовно Іспанії, Скандинавії, Великої Британії та Німеччини. Багато досліджень проведено в Італії, Австралії та Північній Америці, але незадовільної якості.

У таблиці 1 відображені дані щодо поширеності алергії до основних харчових алергенів у різних країнах [95].

Таблиця 1

Поширеність трьох головних харчових алергенів у різних країнах

Країна	1 місце	2 місце	3 місце
США	яйце	коров'яче молоко	арахіс
Германія	яйце	коров'яче молоко	пшениця
Іспанія	яйце	коров'яче молоко	риба
Швейцарія	яйце	коров'яче молоко	арахіс
Ізраїль	яйце	коров'яче молоко	кунжут
Японія	яйце	коров'яче молоко	пшениця

Таблиця 2

Характеристика білків коров'ячого молока

Фракція	Білок	Таксономічна назва алергену	Сумарна кількість, %	Вага, г/л	Молекулярна маса, kDa	Кількість амінокислот	Ізоелектрична точка
Казеїн		Bos d 8	80	~30			
	α_{s1} -казеїн		29	12-15	23,6	199	4,9-5,0
	α_{s2} -казеїн		8	3-4	25,2	207	5,2-5,4
	β -казеїн		27	9-11	24,0	209	5,1-5,4
	γ_1 -казеїн				20,6	180	5,5
	γ_2 -казеїн		6	1-2	11,8	104	6,4
	γ_3 -казеїн				11,6	102	5,8
	к-казеїн		10	3-4	19	169	5,4-5,6
Сироваткові білки			20	~5			
	α -лактоальбумін	Bos d 4	5	1-1,5	14,2	123	4,8
	β -лактоглобулін	Bos d 5	10	3-4	18,3	162	5,3
	Імуноглобулін	Bos d 7	3	0,6-1	160,0	-	-
	Бичачий сироватковий альбумін	Bos d 6	1	0,1-0,4	67,0	583	4,9-5,1
	Лактоферін		Сліди	0,09	800,0	703	8,7

Європейським дослідженням REDAll встановлено, що молоко є найбільш частим алергеном для дітей (38,5%) та другим за частотою для дорослих (26,2%) [96].

У Франції ХА при опитуванні встановлена у 29/182 школярів, серед яких у 11,9% випадків підозрювалася АКМ [97].

У метааналізі R.J. Ropa молоко ідентифіковано як важливий алерген у дослідженнях, де алергія підтверджена провокаційним тестом, але після яйця та риби [98].

Важливо зауважити наявність регіональних відмінностей у профілі ХА, що обумовлено особливостями експозиції харчових алергенів, засобами приготування їжі та культурними традиціями. Наприклад, в Ізраїлі кунжут є третім за поширеністю харчовим алергеном, що обумовлено його широким застосуванням. В Австралії головним алергеном для підлітків є арахіс [99], а для дітей Іраку — коров'яче молоко [100]. Таким чином, у кожному регіоні найбільш репрезентативним є свій, «hand-made» алерген.

Висновки до розділу 3

На відміну від астми та риніту, немає вірогідних епідеміологічних досліджень стосовно ХА у дітей та дорослих. Підозра на АКМ виникає значно частіше, ніж підтверджується.

Повідомлення пацієнтів щодо АКМ зустрічаються у 1–17,5%, 1–13,5% та 1–4% випадків у дошкільнят, дітей 5–16 років та дорослих відповідно. За даними Німецького багатоцентрового дослідження алергії (German Multi-Centre Allergy Study), рівень специфічного IgE до молока прогресивно зменшується від 4% у дітей 2 років до менше 1% у дітей 10 років. Найнадійнішими даними щодо епідеміології АКМ є ті, де алергія підтверджена провокаційними тестами. У Європі виконано 5 таких досліджень. Встановлена поширеність АКМ серед дітей грудного віку: 1,9% — у Фінляндії, 2,16% — на острові Уайт, 2,22% — у Данії, 2,24% — у Нідерландах, 4,9% — у Норвегії.

У хворих з АКМ гастроінтестинальні симптоми розвиваються у 32–60% випадків, ураження шкіри — у 5–90% та анафілаксія — у 0,8–9% випадків.

У кожній третій дитині з atopічним дерматитом АКМ підтверджується елімінаційною дієтою та провокаційною пробою. З іншого боку, 40–50% дітей грудного віку з АКМ страждають на АД.

Зараз у 10 європейських країнах виконується велике епідеміологічне когортне дослідження, яке спонсорується Європейською комісією, щодо вивчення поширеності АКМ, яка підтверджена оральною провокаційною пробою, та сенсифілізації до БКМ у дітей раннього віку.

Розділ 4. Характеристика алергенів коров'ячого молока

Введення

Молоко може бути причиною харчової гіперчутливості, що класифікується як алергія або непереносимість. Механізми непереносимості є імунологічно незалежними і часто обумовлені дефіцитом ензимів: наприклад, лактозна непереносимість внаслідок дефіциту beta-galactosidase (лактази). DRACMA не розглядає питання непереносимості, а висвітлює тільки аспекти, що пов'язані з алергією до коров'ячого молока. Алергічні механізми можуть бути як IgE-обумовлені, так і пов'язані з іншими імунологічними механізмами (інші класи імуноглобулінів, імунні комплекси, клітинно-обумовлені реакції). У розділі надано хімічну характеристику алергенів коров'ячого молока, описано їх перехресну реактивність, резистентність до перетравлення та протеолізу, зміни при технологічному процесі.

Хімічна характеристика алергенів

Коров'яче молоко містить декілька білків, кожен з яких міг би викликати алергічну реакцію у «чутливих» осіб. Деякі з цих білків розглядаються як основні алергени, деякі — як незначні, а інші рідко або ніколи не були пов'язані з повідомленнями про алергічні реакції. Характеристику білків коров'ячого молока наведено у таблиці 2 [101–103].

Раніше вважалося, що β -лактоглобулін (BLG) є найбільш важливим алергеном коров'ячого молока, тому що він відсутній у грудному молоці. Але дослідженнями останніх років доведено критичне значення й інших білків в етіології алергічних хвороб.

Важливе знання міжнародної номенклатури алергенів — саме за цією абrevіатурою ми можемо знайти білок у переліку реактивів, досліджень лабораторії. У міжнародній номенклатурі алергени позначаються абrevіатурою, що утворена від назви роду (скорочення до перших трьох літер) та виду (скорочення до однієї літери) згідно із таксономічною системою Ліннея, та супроводжується арабською цифрою, що відбиває хронологічний порядок, у якому алерген було ідентифіковано [104].

Alpha-лактальбумін (Bos d 4)

Alpha-лактальбумін (А-ЛА) є сироватковим протеїном, що належить до сімейства лізоцимів. А-ЛА — це регуляторна субодиниця лактозної синтази і, маючи можливість змінювати субстратну специфічність галактозилтрансферази в молочній залозі, робить глюкозу гарним акцепторним субстратом для цього ферменту та дозволяє лактозній синтазі синтезувати лактозу [105,106].

А-ЛА виробляється у молочній залозі та був знайдений у всіх аналізованих дотепер видах молока.

А-ЛА містить вісім груп цистеїну, кожна з яких утворює внутрішні дисульфідні зв'язки, і чотири триптофанові залишки. Він містить високо споріднені вузли зв'язування кальцію, які стабілізують його вторинну структуру. Дані щодо ролі А-ЛА у розвитку алергії є суперечливими — як етіологічний чинник АКМ він відмічений у 0–80% випадків [107]. Ця різномірність даних, ймовірно, пов'язана з використанням різних методів оцінки сенсibiliзації до А-ЛА (шкірні прик-тести, визначення специфічних IgE, імуноблотинг та інші).

Beta-лактоглобулін (Bos d 5)

Beta-лактоглобулін (В-ЛГ) є найбільш поширеним сироватковим білком коров'ячого молока. Він присутній у молоці багатьох ссавців, але відсутній у грудному молоці. В-ЛГ належить до ліпокалінового сімейства алергенів і синтезується молочною залозою ссавців. Його функція досконала не вивчена. Вважається, що він може бути залучений до транспорту ретинолу, з яким легко зв'язується [108]. В-ЛГ містить два внутрішні дисульфідні зв'язки та одну вільну SH-групу. У фізіологічних умовах В-ЛГ існує у вигляді рівноважної суміші мономерів та димерів, але, згідно з його ізоелектричною точкою, димери можуть бути об'єднані в октамери. Існує дві головні ізоформи цього білка у коров'ячому молоці: генетичні варіанти А і В, які відрізняються лише двома точковими мутаціями у 64 і 118 амінокислотах. Вважається, що В-ЛГ є найбільш важливим алергеном коров'ячого молока — алергічні реакції на нього відмічені у 13–76% випадків [109].

Бичачий сироватковий альбумін (Bos d 6)

Бичачий сироватковий альбумін (БСА) є основним сироватковим білком. Він може зв'язуватися з водою, жирними кислотами, гормонами, білірубіном, ліками та іонами Са, К, Na. Його основною функцією є регулювання колоїдного осмотичного тиску крові [110]. Третинна структура БСА є стабільною, його трьохмірна форма добре описана у літературі. Цей білок, організований у три гомологічні домени, складається з дев'яти петель, пов'язаних 17 ковалентними дисульфідними містками. Більшість дисульфідних зв'язків добре захищені в ядрі білка та є недоступними для розчинників.

Бичачий сироватковий альбумін бере участь не тільки у патогенезі алергії на молоко, але й в алергічних реакціях на яловичину. Він викликав алергічні реакції негайного типу (набряк губ, кропив'янка, кашель, риніт) у дітей з алергією на яловичину, які отримували цей білок у подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні [111]. Поширеність сенсibiliзації до БСА сягає до 88%, в той час як клінічні симптоми спостерігаються лише у 20% дітей [112].

Імуноглобуліни (Bos d 7)

Бичачі імуноглобуліни присутні в крові, тканинах і рідинах, таких як молоко. Основна частина бичачих імуноглобулінів — це IgG. Бичачі IgG рідко викликають клінічні симптоми АКМ [113].

Казеїни (Bos d 8)

Більшість казеїну знаходиться у колоїдному агрегатному стані (казеїнові міцели), і його біологічною функцією є транспортування фосфатів кальцію. Понад 90% вмісту кальцію знежиреного молока зв'язано включено з міцелами казеїну. Казеїни складаються з чотирьох різних білків (α -s1-, α -s2-, β - і κ -казеїн) з невеликою кількістю послідовних гомологічних ділянок. Інша група, γ -казеїн, яка присутня в дуже низькій кількості в молоці, є продуктом протеолізу β -казеїну. Відмінністю всіх казеїнів є їх низька розчинність при рН 4,6. Казеїни є складними білками з фосфатними групами, які етерифіковані з серином. Казеїни не містять дисульфідних зв'язків, в той час як велика кількість залишків проліну викликає виразний вигин білкового ланцюга, який інгібує утворення щільної форми та визначає його вторинну структуру. Незважаючи на невелику гомологічність між фракціями казеїну, часто спостерігається сенсibiliзація до багатьох казеїнів. Це може бути викликано перехресною сенсibiliзацією через загальні або дуже схожі між собою епітопи [114]. Пацієнти майже завжди сенсibiliзовані до α -казеїнів (100%) та κ -казеїну (91,7%) [115].

Перехресна реактивність між білками молока різних видів тварин

Перехресна реактивність виникає, коли два різні білки мають загальну частину амінокислотної послідовності (принаймні, послідовність, що містить епітопні домени) або коли їх трьохмірна структура утворює дві молекули, подібні у зв'язувальній здатності до конкретних антитіл. Взагалі перехресна реактивність між білками різних ссавців відображає філогенетичні зв'язки між видами тварин та еволюційною цілісністю білків, які часто крос-реактивні [116,117]. Таблиця 3 показує схожість послідовностей (гомологічність), що виражена у відсотках, між білками молока різних видів ссавців [118].

Найбільшу гомологічність відмічено у групи білків Bos (коров'ячого), Ovis (овечого) та Capra (козячого) молока, які належать до одного сімейства жуйних тварин Bovidae. Ці білки мають меншу структурну схожість з білками сімейств Suidae (свині), Equidae (кобили та ослиці), Camelidae (верблюдиці) та з грудним молоком. Молоко верблюдів і мулів (як і грудне молоко) не містить В-ЛГ.

Наочно схожість молока корів, кіз і овець продемонстровано на рис.1 — моделі молока зроблені методом електрофорезу від різних видів ссавців. Білкові профілі молока кобил, ослиць і верблюдиць мають значні відмінності.

Таблиця 3

Гомологічність білків молока ссавців (у відсотках по відношенню до білків коров'ячого молока)

Білок	Козяче	Овече	Кобиляче	Осляче	Верблюдяче	Жіноче
Alpha-лактальбумін	95,1	97,2	72,4	71,5	69,7	73,9
Beta-лактоглобулін	94,4	93,9	59,4	56,9	відсутня	відсутня
Сироватковий альбумін		92,4	74,5	74,1		76,6
α -S1-казеїн	87,9	88,3			42,9	32,4
α -S2-казеїн	88,3	89,2			58,3	
β -казеїн	91,1	92,0	60,5		69,2	56,5
κ -казеїн	84,9	84,9	57,4		58,4	53,2

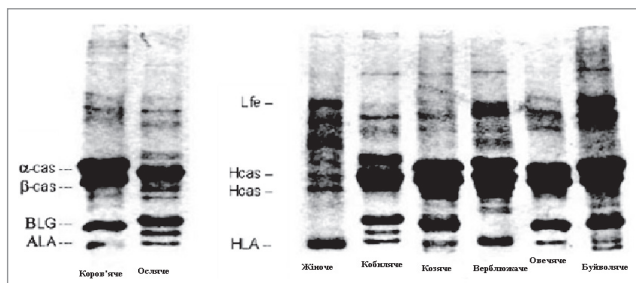


Рис. 1. Електрофорез білків молока різних видів ссавців (WAO DRACMA Guidelines, 2010):

H-cas — людський казеїн, **HLA** — людський лактальбумін, **Lfe** — людський лактоферин, **α-cas** — коров'ячий α-казеїн, **β-cas** — коров'ячий β-казеїн, **BLG** — коров'ячий β-лактоглобулін, **ALA** — α-лактальбумін

Однак дослідження *in vitro* та теоретичні гіпотези не завжди збігаються з клінічними даними, які є досить суперечливими. Так, клінічне дослідження G. Freund (1996) у Франції показало, що 51 дитина з 55, які мали АКМ, толерантно переносили козяче молоко протягом від 8 днів до 1 року [119]. Наступні дослідження показали, що пацієнти з АКМ не мають толерантності до козячого та овечого молока [120].

Крім того, є повідомлення про наявність алергії виключно на козяче та овече молоко, але не на коров'яче, — у 28 дітей старшого віку з важкими алергічними реакціями, у тому числі анафілаксією. У дослідженні S. Ah-Leung (2006) відмічено підвищені рівні IgE до казеїну козячого молока і відсутність сенсibilізації до казеїну коров'ячого молока [124]. Такі факти — не поодинокі [122,123]. Також описано серію клінічних випадків, коли дорослі пацієнти мали алергію на білки козячого молока, високі рівні специфічних IgE до А-ЛА козячого молока без АКМ [124].

Доведено, що молоко кобили та ослиці корисне деяким пацієнтам [125–127], але не слід забувати про різні хімічні складові цього молока та про гігієнічний контроль. Такі ж міркування стосуються верблюдачого молока (Camellidae), яке може бути альтернативою для пацієнтів з АКМ через незначну гомологічність послідовностей їх амінокислот з коров'ячим молоком та відсутність В-ЛГ [128].

Структурні модифікації та алергенність білків коров'ячого молока Трьохмірна структура більшості антигенних білків невідома, навіть там, де амінокислотна послідовність точно визначена, оскільки їх структура не є незмінною та залежить від навколишнього середовища. Ця проблема має велике значення для білків молока, тому що їх організація є складною, і наявність казеїнових міцел робить дослідження складними. Важливими є структурні зміни, що відбуваються при перетравлюванні білків у шлунково-кишковому тракті та при технологічних процесах, бо від цього залежить алергенний потенціал білків.

Травлення та алергенність білків коров'ячого молока

Харчові білки перетравлюються ферментами шлунково-кишкового тракту, і вважається, що білки, більш стійкі до протеолізу, є більш потужними алергенами. Однак *in vitro* було доведено, що немає чіткого взаємозв'язку між перетравленням та алергією на білки [129].

Вважається, що казеїни легко перетравлюються, але в кислому середовищі (рН шлунка) білки коагулюють. Підкислення збільшує розчинність мінералів, тому кальцій і фосфор, що містяться в міцелах, поступово стають розчинними у водній фазі. У результаті міцели казеїну розпадаються, і казеїн випадає в осад.

Сироваткові білки більш розчинні у сольовому розчині, ніж казеїн, і теоретично вони повинні легше перетравлюються протеазами, які працюють у водному середовищі. Однак кореляція між розчинністю у воді і перетравленням не є лінійною. Наприклад, пепсин, трипсин, і термолізін перетравлюють швидше казеїни, ніж сироваткові білки [130].

Хоча БСА дуже добре розчинний у воді і багатий на амінокислоти, що розбиваються шлунково-кишковими ферментами, це відносно стійкі до перетравлення білки. Деякі епітопи були незаймані принаймні 60 хвилин після розщеплення БСА у пепсині. Його 9 петель підтримуються дисульфідними зв'язками, і це уповільнює фрагментацію білка до коротких пептидів з меншою антигенною активністю [131].

Нагрівання та алергенність білків

Звичай коров'яче молоко продається тільки після технологічної обробки, як правило, пастеризації (70–80°C протягом 15–20 секунд), що знижує потенціал патогенного навантаження. Обробка ультрависокими температурами у поєднанні зі швидкісним нагріванням (вище 100°C протягом декількох секунд), або випаровування, яке використовується для виробництва сухих дитячих сумішей, мають низький вплив або взагалі не впливають на алергенний потенціал білків. Кип'ятіння молока протягом 10 хвилин знижує реакцію у пацієнтів, які реагують на БСА і В-ЛГ, але реакція на казеїни залишається незмінною [132].

Деякі автори заперечують зменшення алергенності білків після кип'ятіння — було встановлено агрегування нових білкових полімерів, здатних зв'язувати специфічні IgE. Після кип'ятіння БСА при 100°C протягом 10 хвилин кількість димерних, тримерних та вищих полімерних форм збільшується, і всі вони зберігають здатність зв'язуватися з IgE [133,134].

Крім того, при нагріванні можуть змінюватися тільки конформаційні епітопи з втратою здатності до зв'язування з конкретними IgE, в той час як послідовні епітопи зберігають алергічну активність навіть після нагрівання [135]. Молоко містить обидва види епітопів, і хоча незначне зниження антигенності можна спостерігати з сироватковими білками, цього не спостерігається з казеїнами.

Інтенсивне нагрівання до 121°C протягом 20 хвилин також викликало підвищення деяких алергенних властивостей білків коров'ячого молока [136]. Білки також можуть бути окислені під час промислової обробки, що призводить до утворення модифікованих амінокислотних залишків, особливо в В-ЛГ, які можуть бути відповідальні за розвиток нових імунореактивних структур [137].

Таким чином, збереження алергенної активності в молоці при нагріванні та кип'ятінні є клінічно доведеним фактом.

Технологічні методи модифікації алергенності білків коров'ячого молока

Єдиний метод зменшення алергенності білків — застосування промислових технологій. Гіпоалергенні формули отримують шляхом гідролізу та подальшої обробки — термічної, ультрафільтрації або застосування високого тиску.

Термообробка часто поєднується з протеолізом для зміни трьохмірної структури білка. Однак теплова денатурація може викликати утворення агрегатів з більшою стійкістю до гідролізу, як і у випадку з В-ЛГ [138].

Інший спосіб усунути антигенність включає використання протеолізу в поєднанні з високим тиском. Різні автори показали підвищену фрагментацію В-ЛГ, якщо

протеоліз відбувається після або під час застосування високого тиску [139].

Висновки до розділу 4

Головні алергени коров'ячого молока — сироваткові білки та казеїн. Сироваткові білки включають:

- Alpha-лактоальбумін (Bos d 4) — його роль в АКМ не визначено; поширеність алергічних реакцій на нього становить, за даними різних досліджень, від 0 до 80%.
- Beta-лактоглобулін (Bos d 5) — його кількість найбільша серед інших сироваткових протеїнів, присутніх у молоці багатьох ссавців, але відсутніх у жіночому молоці. Від 13% до 76% пацієнтів реагують на цей білок.
- Бичачий сироватковий альбумін (Bos d 6) — відповідає за перехресну алергію до яловичини; сенсibilізація до нього відмічена у 0–88% випадків, але алергічні симптоми — у 20% пацієнтів.
- Бичачі імуноглобуліни (Bos d 7) — рідко викликають клінічні симптоми алергії.

Казеїни (Bos d 8) складаються з чотирьох різних фракцій (alphas1, alphas2, beta, kappa), які характеризуються незначною гомологією, але часто дають загальну сенсibilізацію. Найчастіше пацієнти сенсibilізовані до alpha (100%) та kappa (91,7%) казеїнів.

Молоко різних ссавців характеризується перехресною реактивністю. Найбільшу гомологічність відмічено у білків коров'ячого, овечого та козячого молока (ссавці одного сімейства жуйних тварин Bovidae). Меншу структурну схожість з білками коров'ячого молока мають білки молока тварин сімейств Suidae (свині), Equidae (кобили та ослиці), Camelidae (верблюдиці) та грудне молоко. Молоко верблюдів і мулів (як і грудне молоко) не містить Bos d 5.

Не встановлено чіткої залежності алергенності білків від перетравлення в шлунково-кишковому тракті. Алергени молока зберігають біологічну активність навіть після кип'ятіння, пастеризації, обробки ультрависокими температурами, випаровуванням що застосовуються при виробництві сухих молочних дитячих сумішей.

Для отримання гіпоалергених сумішей застосовуються екстенсивний гідроліз з наступною технологічною обробкою, такою як висока температура, ультрафільтрація та високий тиск. Зроблені спроби класифікації формул за ступенем фрагментації білка на формули з частковим та екстенсивним гідролізом, але немає згоди щодо критеріїв цієї класифікації. Доведено ефективність гідролізованих формул — вони широко використовуються як джерело білка для дітей з АКМ.

Список літератури зі 139 джерел знаходиться у редакції

Основные положения руководства по ведению больных с аллергией к коровьему молоку. Часть 1. Эпидемиология и аллергены коровьего молока

Т.Р. Уманец¹, О.Г. Шадрин¹, В.А. Клименко², С.Л. Няньковский³, А.М. Ащеулов², Е.С. Няньковская³

¹ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

²Харьковский национальный медицинский университет, Украина

³Львовский национальный медицинский университет, Украина

В статье представлены первые четыре раздела руководства Всемирной организации аллергологов DRACMA (Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy), послужившего прототипом для создания отечественного Руководства по ведению больных с аллергией к коровьему молоку. Рекомендации разработаны рабочей группой по инициативе Ассоциации аллергологов, Ассоциации детских гастроэнтерологов и нутрициологов, Ассоциации иммунологов, аллергологов и иммунореабилитологов Украины и при поддержке МЗ Украины.

Ключевые слова: аллергия, коровье молоко, белки, эпидемиология.

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA. 2015.1(65):16-22; doi 10.15574/SP.2015.65.16

The main provisions of the guideline for the management of patients with the cow's milk allergy. Part 1 — epidemiology and cow's milk allergens

T.R. Umanets¹, O.G. Shadrin¹, V.A. Klymenko², S.L. Nyankovskyy³, O.M. Ashcheulov², O.S. Nyankovska³

¹SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of NAMS Ukraine», Kyiv, Ukraine

²Kharkiv National Medical University, Ukraine

³Lviv National Medical University, Ukraine

The article presents the first four sections of the World Allergy Organization guidelines DRACMA (Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy), which was the prototype for the creation of national guidelines for the management of patients with the cow milk allergy. Guidelines developed by the panel on the initiative of Ukrainian Allergy Organization, Ukrainian Organization of children gastroenterologists and nutritionists, Ukrainian Organization of immunologists, allergists and immunorehabilitologists and supported by the Ministry of Health of Ukraine.

Key words: allergy, cow's milk, proteins, epidemiology.

Сведения об авторах:

Уманец Татьяна Рудольфовна — д.мед.н., вед. н. сотр. научной группы проблем аллергии и иммунореабилитации детей ГУ «ИПАГ НАМН України», Главный внештатный специалист МЗ Украины по специальности «Детская аллергология». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8.

Шадрин Олег Геннадиевич — проф., д. мед. н., зав. отделения проблем питания и соматических заболеваний детей раннего возраста ГУ «ИПАГ НАМН Украины», Главный внештатный специалист МЗ Украины по специальности «Детская гастроэнтерология». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел. (044) 483-81-17.

Клименко Виктория Анатольевна — д.мед.н., зав. каф. пропедевтики педиатрии №2 Харьковского национального медицинского университета. Адрес: г. Харьков, ул. Клочковская, 337-а; тел.: (057)338-20-69.

Няньковский Сергей Леонидович — д.мед.н., проф., зав. каф. педиатрии Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69; тел. (032) 291-78-51.

Ащеулов Александр Михайлович — к.м.н., ассистент каф. пропедевтики педиатрии №2 Харьковского национального медицинского университета. Адрес: г. Харьков, ул. Клочковская, 337-а; тел.: (057)338-20-69.

Няньковская Елена Сергеевна — д.мед.н., доц. каф. педиатрии и неонатологии ФПО Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69; тел. (032) 294-16-24.

Статья поступила в редакцию 23.01.2015 г.