

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.112.93:571.27  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-405-413>

Поступила в редакцию 03.09.2018  
Received 03.09.2018

**И. В. Романова<sup>1,2</sup>, А. Е. Гончаров<sup>1,2</sup>, Н. И. Дударева<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>10-я городская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

## **ПРИМЕНЕНИЕ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ И ДЕГРАНУЛЯЦИИ БАЗОФИЛОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИИ**

**Аннотация.** В настоящее время известно несколько маркеров активации и дегрануляции базофилов, применяемых в тесте активации базофилов, однако активно используются лишь CD63 и CD203c. С учетом возможности использования и клинической значимости в работе изучены маркеры активации и дегрануляции CD11b, CD13, CD63, CD69, CD107a, CD164, CD203c и CD300a. Показано, что маркер дегрануляции CD107a и маркер активации CD11b обладают высокой чувствительностью и специфичностью и могут применяться для диагностики гиперчувствительности к пыльцевым аллергенам.

**Ключевые слова:** аллергия, базофилы, маркеры, активация, проточная цитометрия

**Для цитирования:** Романова, И. В. Применение маркеров активации и дегрануляции базофилов для диагностики пыльцевой аллергии / И. В. Романова, А. Е. Гончаров, Н. И. Дударева // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 4. – С. 405–413. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-405-413>

**I. U. Ramanava<sup>1,2</sup>, A. Y. Hancharou<sup>1,2</sup>, N. I. Dudarava<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>10th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

## **APPLICATION OF BASOPHIL ACTIVATION AND DEGRANULATION MARKERS FOR DIAGNOSIS OF POLLEN ALLERGY**

**Abstract.** There are several basophil activation and degranulation markers for basophil activation test discovered in recent years. However, only CD63 and CD203c are actively used. The activation and degranulation markers (CD11b, CD13, CD63, CD69, CD107a, CD164, CD203c and CD300a) were characterized from the point of view of the possibility to use for BAT and their clinical efficiency. It has been shown that the degranulation marker CD107a and the activation marker CD11b have high sensitivity and specificity and can be used to diagnose hypersensitivity to pollen allergens.

**Keywords:** allergy, basophils, markers, activation, flow cytometry

**For citation:** Ramanava I. U., Hancharou A. Y., Dudarava N. I. Application of basophil activation and degranulation markers for diagnosis of pollen allergy. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 4, pp. 405–413 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-405-413>

**Введение.** Тест активации базофилов (БАТ, basophil activation test) – высокоэффективный метод диагностики гиперчувствительности немедленного типа, в частности, к пыльцевым, пищевым аллергенам, а также к лекарственной аллергии [1]. Метод заключается в регистрации маркеров активации и дегрануляции базофилов крови пациента после их специфической стимуляции аллергеном. Для проведения исследования используют самые разные молекулы, отражающие изменение функционального состояния базофилов в процессе активации. Наиболее часто используемыми маркерами являются CD63 и CD203c, реже – CD107a, CD13, CD164 и др. До настоящего времени сравнительная оценка клинической эффективности использования того или иного маркера базофилов или их сочетания для диагностики аллергии не проводилась.

Цель исследования – изучить чувствительность и специфичность маркеров активации и дегрануляции базофилов для диагностики IgE-опосредованной гиперчувствительности к пыльце тимофеевки.

**Объекты и методы исследования.** В группу исследования были включены 16 образцов периферической крови пациентов, находящихся на лечении в УЗ «10-я городская клиническая больница», сенсibilизированных к пыльце тимофеевки, с клиническими диагнозами: аллергический ринит, аллергический риноконъюнктивит, бронхиальная астма. Средний возраст составил 28 (21–48) лет. Верификацию диагноза проводили на основании жалоб, анамнеза, результатов клинического осмотра и кожных проб. Контрольную группу составили 10 образцов периферической крови добровольцев, из них у 6 пациентов в анамнезе аллергические реакции отсутствовали, у 4 – не отмечались аллергические реакции на другие пыльцевые аэроаллергены, за исключением тимофеевки («атопический» контроль). Забор крови производили из кубитальной вены в пробирку с гепарином в качестве антикоагулянта.

**Тест активации базофилов.** Постановку теста активации базофилов осуществляли не позднее чем через 2 ч после забора крови. Кровь в количестве 100 мкл инкубировали с экстрактом пыльцы тимофеевки (SEVAPHARMA, Чехия) в разведении 1:100 и anti-IgE (1 мкг/мл, клон 4H10) в качестве положительного контроля в течение 20 мин при 37 °С. Процесс активации в пробах останавливали путем воздействия температуры –20 °С в течение 1 мин. Затем добавляли моноклональные антитела производства ExBio, Чехия: CD11b – APC (клон MEM-174), CD13 – PerCP-Cy5.5 (клон WM15), CD69 – PE (клон FN50), CD203c – APC (клон NP4D6), CD300a – PE (клон MEM-260), CD123 – APC (клон 6H6); производства Beckman Coulter, США: CD63 – FITC (клон CLBGran/12), CD123 – PE (клон SSDCLY107D2), HLA-DR – FITC (клон IM1638U), HLA-DR – PE-Cy 7 (клон Immu-357); производства Miltenyi Biotec, Германия: CD107a – PE-Cy 7 (клон H4A3.), CD164 – PE (клон N6B6). Полученную смесь тщательно смешивали на шейкере и инкубировали на протяжении 15 мин при температуре от +2 до +8 °С в темноте. После чего лизировали эритроциты раствором хлорида аммония 10 мин при температуре от +18 до +25 °С в темноте. Пробирки центрифугировали при 200–300 g 5 мин для осаждения клеток и проводили учет на проточном цитометре BD FACSCalibur. При этом в каждой пробе учитывали не менее 500 базофилов. Данные анализировали при помощи программного обеспечения Weasel версии 3.0.2 [2].

**Оценка результатов ВАТ и статистический анализ.** Оценивали индекс активации базофилов по каждому маркеру путем расчета соотношения процента и/или интенсивности экспрессии маркера базофилов в пробах с аллергеном к проценту и/или интенсивности данного маркера в отрицательном контроле. Для маркеров дегрануляции базофилов CD63 и CD107a оценивали также разницу между активированными и неактивированными базофилами, которая должна была составлять не менее 5 %.

Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи программ Statistica версии 12 (StatSoft, США), StatPlus версии 4.9 (AnalystSoft, Канада), MedCalc версии 17 (MedCalc Software, Бельгия). Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й перцентилей. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы. Диагностическую ценность показателей определяли с помощью метода ROC-анализа с расчетом площади под рабочей характеристической кривой (AUROC) [3, 4]. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Всего было исследовано 26 образцов периферической крови. Из них 16 образцов от пациентов, сенсibilизированных к пыльце тимофеевки. Образцы крови с гепарином в качестве антикоагулянта доставляли для исследования в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии в течение не более чем 2 ч после забора крови. При этом температура хранения и транспортировки составляла 18–26 °С [5].

Контрольную группу составили образцы периферической крови здоровых доноров ( $n = 6$ ), у которых отсутствовали клинические проявления аллергии на аэроаллергены, что подтверждалось отрицательными кожными пробами. В качестве атопического контроля в целях определе-

ния специфичности активации базофилов на пыльцевой аллерген в исследование были включены 4 образца периферической крови пациентов, страдающих аллергическим риноконъюнктивитом на пыльцу деревьев. Отсутствие сенсibilизации к пыльце тимофеевки подтверждали отрицательными кожными пробами и определением специфического IgE (ИФА).

Три образца (11,5 %) периферической крови (два из группы пациентов, один из контрольной группы) были исключены из исследования в связи с отсутствием активации под действием положительного контроля anti-IgE (так называемые «неотвечающие» базофилы). По данным различных исследований, доля таких «неотвечающих» базофилов составляет до 6–17 %, при этом пациенты имеют положительные кожные пробы на клинически значимые аллергены [6]. Причиной феномена «неотвечающих базофилов» считают дефицит экспрессии протеина *Syk* базофилами [7]. У таких пациентов высокий риск получения ложноотрицательных результатов ВАТ, что обуславливает необходимость их исключения из исследования.

В качестве аллергена для проведения ВАТ выступал диагностический аллерген экстракта тимофеевки в разведении 1:100. Разведение аллергена было выбрано экспериментально таким образом, чтобы вызывать активацию не менее 50 % базофилов.

Анализ исследуемых образцов на проточном цитометре включал гейтирование базофилов среди мононуклеаров способом CD123+HLA-DR– на цитограмме. Данный способ гейтирования является оптимальным для идентификации базофилов, содержит минимальное количество контаминирующих клеток, характеризуется стабильностью экспрессии CD123 при специфической активации базофилов [8].

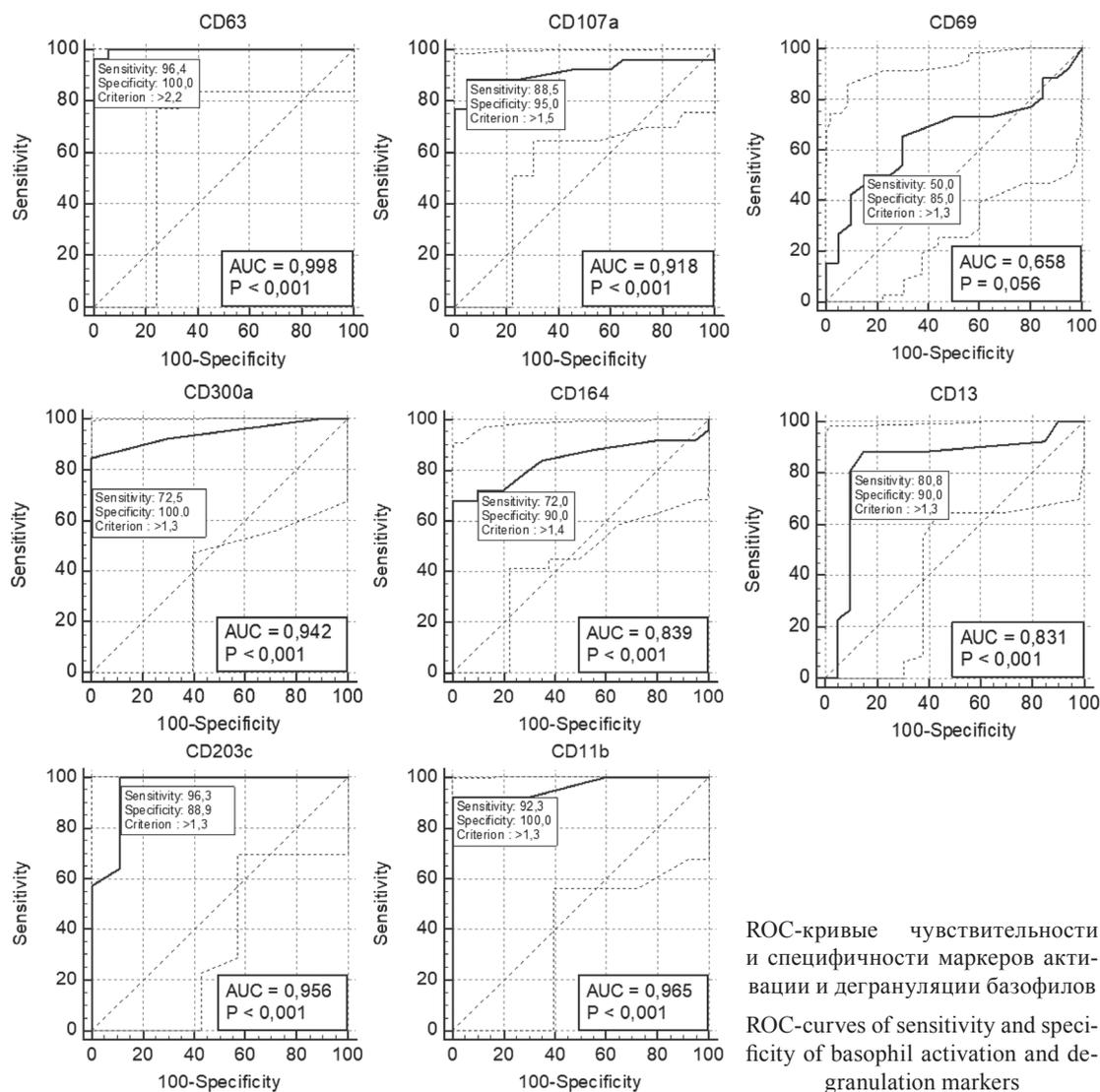
Для интерпретации результатов рассчитывали степень изменения экспрессии молекул, так называемый индекс активации (ИА), т. е. соотношение величины экспрессии молекулы в положительном контроле к ее значению в отрицательном контроле. В случае, если процент экспрессии молекулы на нестимулированных базофилах был изначально высоким, ИА оценивали только по изменению интенсивности флуоресценции.

Так, для оценки маркера дегрануляции CD63 ИА рассчитывали по соотношению процентного содержания CD63+ клеток в исследуемой пробе к CD63+ клеткам в отрицательном контроле (ИА<sup>63</sup> %). Для оценки маркера активации CD203c ИА рассчитывали по соотношению интенсивности флуоресценции CD203c клеток в исследуемой пробе к интенсивности флуоресценции CD203c клеток в отрицательном контроле (ИА<sup>203cMFI</sup>). Значения индексов активации всех маркеров активации и дегрануляции базофилов для группы пациентов представлены в таблице.

**Значения индекса активации маркеров активации и дегрануляции базофилов в группе пациентов**

**Activation index of activation and degranulation basophil markers for patient group**

№ ИА	CD63		CD203c	CD300a	CD11b	CD69		CD107a		CD13		CD164	
	%	MFI	MFI	MFI	MFI	%	MFI	%	MFI	%	MFI	%	MFI
1Г	2,5	6,5	2,2	1,0	1,4	1,6	1,1	1,1	2,1	1,9	2,5	0,1	1,2
2П	5,7	33,0	2,3	1,7	3,0	0,6	1,0	9,0	20,8	6,1	6,0	6,4	2,5
3Ф	4,8	2,4	2,4	1,2	1,5	1,0	0,8	0,9	2,0	1,0	0,9	0,6	0,7
4Р	12,0	9,3	3,1	1,5	1,9	2,5	0,4	15,6	51,2	0,9	1,5	1,0	3,4
5С	68,9	29,8	4,6	1,9	2,4	10,2	2,4	26,0	135,0	1,3	2,3	1,3	6,4
6М	3,2	2,1	1,8	1,1	1,0	1,2	6,9	2,7	3,5	1,4	1,7	1,5	2,3
7М	12,1	12,3	3,8	1,5	3,0	0,4	0,1	13,5	9,4	7,6	6,0	4,1	21,5
8Х	8,9	24,8	2,5	1,6	1,9	4,4	1,9	12,4	30,8	1,4	1,8	1,3	3,0
9К	8,4	42,8	3,1	1,6	2,9	7,0	1,5	20,2	72,2	4,3	6,6	3,6	14,2
10Т	13,9	26,2	3,3	1,5	1,7	0,8	1,3	18,0	0,0	2,8	3,4	2,6	6,9
11Е	16,0	75,3	5,1	1,8	3,1	1,7	1,1	73,9	62,8	2,7	6,7	2,2	10,0
12О	2,9	2,7	1,4	1,2	1,5	1,1	1,0	2,4	1,7	1,3	1,1	2,0	1,8
13К	12,2	27,2	2,3	1,4	1,7	15,8	1,8	17,5	44,3	1,3	2,3	1,1	5,0
14М	24,7	104,4	6,2	1,9	2,8	1,8	1,0	46,5	61,5	3,4	4,1	2,3	6,4
Me (25–75)	10,4 (4,8– 13,9)	25,5 (6,5– 33,0)	2,8 (2,3– 13,8)	1,5 (1,2– 1,7)	1,9 (1,5– 2,9)	1,65 (1,0– 4,4)	1,1 (1,0– 1,8)	14,55 (2,7– 20,2)	25,8 (2,1– 61,5)	1,65 (1,3– 3,4)	2,4 (1,7– 6,0)	1,75 (1,1– 2,6)	4,2 (2,3– 6,9)



Методом ROC-анализа установлена чувствительность и специфичность диагностики пыльцевой аллергии по исследуемым маркерам, а также определена точка диагностически значимого уровня (cut-off point) – величина, используемая для разделения значений на две части (т. е. пациенты с аллергией и без нее). При исследовании ИА по двум значениям (% экспрессии и интенсивность экспрессии) для проведения ROC-анализа учитывали оба значения. Уровень cut-off point определяли по максимальному показателю чувствительности маркера (но не менее 1,3). Графически результаты представлены на рисунке.

**Маркеры дегрануляции.** Молекула CD63 в настоящее время считается «классической» для проведения ВАТ, эффективность которого показана для различных видов гиперчувствительности, в том числе для пыльцевых аллергенов [9], аллергии на яды насекомых [10], лекарственной гиперчувствительности [11], пищевой аллергии [12]. В исследовании показано, что для молекулы CD63 наблюдались самые высокие показатели чувствительности и специфичности – 96,4 и 100 % соответственно (уровень cut-off – 2,2).

Молекула CD107a наравне с CD63 относится к семейству LAMP (лизосомально-ассоциированных мембранных липопротеинов) и характеризуется сходным характером экспрессии на нативных и активированных базофилах. Кинетика экспрессии молекулы CD107a при IgE-опосредованной активации базофилов подробно показана в исследовании F. Hennersdorf с соавт. [13] в 2005 г. Однако в настоящее время при выполнении ВАТ для диагностики гиперчувствительности случаи использования CD107a единичны и не дают представления о клинической эффек-

тивности этой молекулы [14]. В то же время проведенные нами исследования показывают, что активация базофилов сопровождается более выраженным увеличением экспрессии молекулы CD107a в сравнении с маркером CD63, что подтверждают средние значения индекса активации (14,55 (2,7–20,2) и 10,4 (4,8–13,9) соответственно). Учитывая, что для клинического заключения крайне важно точно дифференцировать базофилы в покое и при их активации, полученные результаты убедительно показывают преимущество определения молекулы CD107a при выполнении ВАТ.

**Маркеры активации.** Основным по частоте использования для ВАТ маркером активации является молекула CD203c, привлекательность которой состоит в экспрессии только на базофилах среди клеток периферической крови [15]. С учетом стремления минимизировать количество использованных молекул-маркеров активации для проведения ВАТ без потери клинической эффективности некоторые исследователи указывают на успешность учета ВАТ только по маркеру CD203c. Так, для диагностики аллергии на яд перепончатокрылых показана более высокая чувствительность молекулы CD203c в сравнении с CD63 [16]. Схожие выводы были сделаны и при диагностике гиперчувствительности на амоксициллин [17]. Группа исследователей под руководством R. Boumiza [18] также приводит данные о значительном превосходстве CD203c по сравнению с CD63 для диагностики гиперчувствительности. Однако, чтобы оценить клиническую значимость исследуемого аллергена, а также доказать IgE-опосредованную активацию базофилов, что особенно важно для пациентов с лекарственной гиперчувствительностью, наряду с маркерами активации необходимо использовать маркеры дегрануляции. По результатам проведенного исследования представлены высокая чувствительность (96,3 %) и специфичность (88,9 %) маркера CD203c (уровень cut-off – 1,3).

Данные о клинической эффективности маркера CD164 ограничены двумя исследованиями [19, 20], при этом в одном из них отмечена зависимость экспрессии CD164 от концентрации аллергена. В сравнении с CD203c для молекулы CD164 чувствительность и специфичность были несколько ниже – 72,0 и 90,0 % соответственно (уровень cut-off – 1,4).

Молекула CD13 в качестве маркера активации предложена также F. Hennesdorf с соавт. [13]. Клиническая эффективность данного маркера показана в исследовании с использованием рекомбинантных аллергенов, при этом отмечено, что экспрессия CD13 повышалась только при IgE-опосредованной стимуляции и не отвечала на другие стимулы (IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF) [21]. Чувствительность и специфичность данного маркера составила 80,0 и 90,0 % соответственно (уровень cut-off – 1,3).

Известно, что увеличение экспрессии молекулы CD69 может наблюдаться на активированных клетках иммунной системы, включая Т-лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, а также эозинофилы. В качестве маркера активации для базофилов молекула CD69 также может использоваться [8]. В одном из исследований выявлена зависимость CD69 от присутствия ИЛ-3 [22]. Однако сведения об эффективности данного маркера для ВАТ отсутствуют. Нами установлено, что в ответ на пыльцевой аллерген чувствительность и специфичность данного маркера составили 50,0 и 85,0 % соответственно (уровень cut-off – 1,3), что указывает на невозможность его использования с диагностической целью.

Молекулы адгезии группы CD11(abc) изучены в работе B. S. Vochneg с соавт. [23], в которой проведена оценка их экспрессии на базофилах под действием различных активаторов, таких как anti-IgE, FMLP, кальциевый ионофор A23187, эйкозаноиды [24]. Кинетический анализ показал, что увеличение экспрессии CD11b предшествует выбросу гистамина и достигает максимума в течение 5 мин. В исследовании D. MacGlashan Jr. [25] показано, что CD11b и CD203c характеризуются одинаковой кинетикой экспрессии, учитывая их одинаковый ответ на одни и те же стимулы и ингибиторы, а также скоростью реагирования. Однако при сравнении чувствительности и специфичности этих маркеров активации показатели для CD11b заметно превышают таковые для CD203c (92,3 и 100 %, уровень cut-off – 1,3), что делает CD11b более выгодным для использования по сравнению с маркером CD203c при проведении ВАТ.

Активация базофилов под действием специфического стимула также приводит к усилению интенсивности экспрессии ингибиторной иммуноглобулино-подобной молекулы CD300a [26].

В то же время показано, что CD300a ингибирует IgE/FcεR-зависимую дегрануляцию базофилов [27]. Исследования по оценке эффективности использования CD300a для проведения ВАТ до настоящего времени не проводились. Результаты данного исследования показывают высокую специфичность (100 %), при этом чувствительность составила лишь 72 % (уровень cut-off – 1,3). Однако рекомендации по использованию маркера активации CD300a для проведения ВАТ ограничены, учитывая неоднозначную функцию данной молекулы.

**Комбинирование маркеров.** ВАТ предназначен для диагностики гиперчувствительности немедленного типа и подразумевает специфическую, IgE-опосредованную, активацию базофилов тем или иным аллергеном. Одним из направлений использования ВАТ является диагностика лекарственной гиперчувствительности, когда может наблюдаться менее выраженная активация базофилов в сравнении, например, с пыльцевой аллергией. Поэтому для усиления диагностической значимости ВАТ очень важно использовать разные маркеры активации и дегрануляции базофилов.

Сочетание маркеров активации и дегрануляции позволяет добиться 100 %-ной чувствительности, что невозможно с использованием какого-либо одного маркера. При этом специфичность полученных результатов при комбинировании маркеров снизится и будет зависеть от количества используемых маркеров. Таким образом, необходимо включать только те маркеры для ВАТ, сочетание которых позволит получить максимальную специфичность. В проведенном исследовании сочетание CD63 и CD203c демонстрирует специфичность 77,8 %, такое же значение специфичности и для комбинации CD107a и CD11b. В то же время совместное использование молекул CD107a и CD203c, а также сочетание маркеров дегрануляции CD107a и CD63 позволяет получить максимальную специфичность (88,9 %), что подтверждает высокую диагностическую значимость молекулы CD107a в сравнении с CD63.

**Заключение.** Эффективность диагностики гиперчувствительности с помощью теста активации базофилов во многом зависит от выбора маркера активации и/или дегрануляции или их сочетания. Для оценки вклада каждого маркера в клиническую эффективность метода необходимо тщательно исследовать чувствительность и специфичность для диагностики конкретного вида аллергии. Учитывая, что наиболее мощная активация базофилов наблюдается при использовании крупномолекулярных аллергенов, исследование клинической значимости маркеров активации и дегрануляции базофилов показана для пациентов, страдающих аллергией на пыльцу тимфеовки. При этом проведена оценка специфичности реагирования каждого маркера базофилов у пациентов без сопутствующей аллергии и «атопическим» контролем.

Показана высокая чувствительность и специфичность маркера дегрануляции CD107a, при этом наблюдается более выраженное и легко определяемое по сравнению с CD63 разделение между активированными и неактивированными базофилами, что служит преимуществом для клинического применения CD107a. Представлены данные, что CD11b может служить новым высокоэффективным маркером активации наряду с CD203c, а также в сочетании с маркером дегрануляции CD107a. Молекулы CD69, CD164, CD13, CD300a характеризуются более низкой чувствительностью и специфичностью, вследствие чего уступают по клинической эффективности другим маркерам для постановки ВАТ, по крайней мере применительно к пыльцевым аллергенам.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease – an overview / B. Eberlein [et al.] // *Allergo J. Inter.* – 2016. – Vol. 25, N 4. – P. 106–113. <https://doi.org/10.1007/s40629-016-0116-2>
2. Battye, F. Flow cytometry Consulting [Electronic resource] / F. Battye. – Mode of access : <http://www.frankbattye.com.au/Weasel/index.html>. – Date of access : 19.06.2016.
3. Fawcett, T. An introduction to ROC analysis / T. Fawcett // *Pattern Recogn. Lett.* – 2006. – Vol. 27, N 8. – P. 861–874. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2005.10.010>
4. Eusebi, P. Diagnostic accuracy measures / P. Eusebi // *Cerebrovasc. Dis.* – 2013. – Vol. 36, N 4. – P. 267–272. <https://doi.org/10.1159/000353863>
5. Романова, И. В. Оптимизация условий проведения теста активации базофилов / И. В. Романова, А. Е. Гончаров, Н. И. Дударева // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2017. – № 4. – С. 48–59.

6. Flow-assisted allergy diagnosis: current application and future perspectives / D. G. Ebo [et al.] // *Allergy*. – 2006. – Vol. 61, N 9. – P. 1028–1039. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01039.x>
7. Syk deficiency in nonreleaser basophils / C. L. Kepley [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 104, N 2. – P. 279–284. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(99\)70367-2](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70367-2)
8. Романова, И. В. Оптимизация алгоритма гейтирования базофилов на проточном цитометре: многоцветный анализ / И. В. Романова, А. Е. Гончаров, Н. И. Дударева // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2016. – № 4. – С. 15–24.
9. Basophil activation during pollen season in patients monosensitized to grass pollens / M. Saporta [et al.] // *Allergy*. – 2001. – Vol. 56, N 5. – P. 442–445. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.056005442.x>
10. Utility of laboratory testing for the diagnosis of Hymenoptera venom allergy / M. Vachová [et al.] // *Allergy Asthma Proc.* – 2016. – Vol. 37, N 3. – P. 248–255. <https://doi.org/10.2500/aap.2016.37.3934>
11. Flow-cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics / M. L. Sanz [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2002. – Vol. 32, N 2. – P. 277–286. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2002.01305.x>
12. Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE-mediated food allergy / D. A. Moneret-Vautrin [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 1999. – Vol. 82, N 1. – P. 33–40. [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)62657-9](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)62657-9)
13. Identification of CD13, CD107a, and CD164 as novel basophil-activation markers and dissection of two response patterns in time kinetics of IgE-dependent upregulation / F. Hennesdorf [et al.] // *Cell Res.* – 2005. – Vol. 15, N 5. – P. 325–335. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290301>
14. Grass pollen allergen-induced surface expression of CD203C, CD63 and CD107A on CRTH2+ basophils: novel biomarkers for monitoring efficacy of allergen-specific immunotherapy / M. Shamji [et al.] // *World Allergy Organ. J.* – 2012. – Vol. 5, suppl. 2. – P. S49. <https://doi.org/10.1097/01.WOX.0000411842.94409.90>
15. Bühring, H. J. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis / H. J. Bühring, A. Streble, P. Valent // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2004. – Vol. 133, N 4. – P. 317–329. <https://doi.org/10.1159/000077351>
16. Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy / B. Eberlein-König [et al.] // *Allergy*. – 2006. – Vol. 61, N 9. – P. 1084–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01122.x>
17. Comparison of two basophil activation markers CD63 and CD203c in the diagnosis of amoxicillin allergy / N. Abuaf [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2008. – Vol. 38, N 6. – P. 921–928. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.02960.x>
18. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63 / R. Boumiza [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2003. – Vol. 33, N 2. – P. 259–265. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01594.x>
19. Validation of basophil CD164 upregulation for pollen allergy diagnosis / A. Wolanczyk-Medrała [et al.] // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* – 2010. – Vol. 58, N 6. – P. 459–465. <https://doi.org/10.1007/s00005-010-0104-z>
20. The effects of dasatinib on IgE receptor-dependent activation and histamine release in human basophils / M. Kneidinger [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 111, N 6. – P. 3097–3107. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-08-104372>
21. Recombinant allergens promote expression of aminopeptidase-n (CD13) on basophils in allergic patients / K. Sonneck [et al.] // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 21, N 1. – P. 11–21. <https://doi.org/10.1177/039463200802100103>
22. Activation markers of human basophils: CD69 expression is strongly and preferentially induced by IL-3 / C. Yoshimura [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – Vol. 109, N 5. – P. 817–823. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.123532>
23. Bochner, B. S. Altered surface expression of CD11 and Leu 8 during human basophil degranulation / B. S. Bochner, S. A. Sterbinsky // *J. Immunol.* – 1991. – Vol. 146, N 7. – P. 2367–2373.
24. Effects of prostaglandin D(2) and 5-lipoxygenase products on the expression of CD203c and CD11b by basophils / G. Monneret [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – Vol. 312, N 2. – P. 627–634. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.074823>
25. MacGlashan Jr., D. Marked differences in the signaling requirements for expression of cd203c and cd11b versus cd63 expression and histamine release in human basophils / D. MacGlashan Jr. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 159, N 3. – P. 243–252. <https://doi.org/10.1159/000332150>
26. Human basophils express the inhibitory receptor CD300a (IRp60) / V. Sabato [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 127, N 2. – P. AB75. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.12.310>
27. Mechanism of phosphatidylserine inhibition of IgE/FcεRI-dependent anaphylactic human basophil degranulation via CD300a / V. Sabato [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 134, N 3. – P. 734–737. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.03.029>

## References

1. Eberlein B., Santos A. F., Mayorga C., Nopp A., Ferrer M., Rouzair P., Ebo D., Sabato V., Sanz M. L., Pecaric-Petkovic T., Patil S. U., Hausmann O. V., Shreffler W. G., Korosec P., Knol E. F., Hoffmann H. J. Basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease – an overview. *Allergo Journal International*, 2016, vol. 25, no. 4, pp. 106–113. <https://doi.org/10.1007/s40629-016-0116-2>
2. Battye F. *Flow cytometry Consulting*. Available at: <http://www.frankbattye.com.au/Weasel/index.html> (accessed 19.06.2016).
3. Fawcett T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition. Letters*, 2006, vol. 27, no. 8, pp. 861–874. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2005.10.010>

4. Eusebi P. Diagnostic accuracy measures. *Cerebrovascular Diseases*, 2013, vol. 36, no. 4, pp. 267–272. <https://doi.org/10.1159/000353863>
5. Romanova I. V., Goncharov A. E., Dudareva N. I. Optimization of basophil activation test technical procedure. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 4, pp. 48–59 (in Russian).
6. Ebo D. G., Sainte-Laudy J., Bridts C. H., Mertens C. H., Hagendorens M. M., Schuerwegh A. J., de Clerck L. S., Stevens W. J. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy*, 2006, vol. 61, no. 9, pp. 1028–1039. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01039.x>
7. Kepley C. L., Youssef L., Andrews R. P., Wilson B. S., Oliver J. M. Syk deficiency in nonreleaser basophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1999, vol. 104, no. 2, pp. 279–284. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(99\)70367-2](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70367-2)
8. Romanova I. V., Goncharov A. E., Dudareva N. I. Optimization of basophil gating algorithm on flow cytometry: multicolor analysis. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2016, no. 4, pp. 15–24 (in Russian).
9. Saporta M., Kamei S., Persi L., Bousquet J., Arnoux B. Basophil activation during pollen season in patients monosensitized to grass pollens. *Allergy*, 2001, vol. 56, no. 5, pp. 442–445. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.056005442.x>
10. Vachová M., Panzner P., Malkusová I., Hanzlíková J., Vlas T. Utility of laboratory testing for the diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy and Asthma Proceedings*, 2016, vol. 37, no. 3, pp. 248–255. <https://doi.org/10.2500/aap.2016.37.3934>
11. Sanz M. L., Gamboa P. M., Antépara I., Uasuf C., Vila L., Garcia-Avilés C., Chazot M., De Weck A. L. Flow-cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clinical Experimental Allergy*, 2002, vol. 32, no. 2, pp. 277–286. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2002.01305.x>
12. Moneret-Vautrin D. A., Sainte-Laudy J., Kanny G., Frémont S. Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE-mediated food allergy. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 1999, vol. 82, no. 1, pp. 33–40. [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)62657-9](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)62657-9)
13. Hennersdorf F., Florian S., Jakob A., Baumgärtner K., Sonneck K., Nordheim A., Biedermann T., Valent P., Bühring H. J. Identification of CD13, CD107a, and CD164 as novel basophil-activation markers and dissection of two response patterns in time kinetics of IgE-dependent upregulation. *Cell Research*, 2005, vol. 15, no. 5, pp. 325–335. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290301>
14. Shamji M., Layhadi J. A., Cheung D. K. M., Khan S. Q., Phippard D. J., Durham S. Grass pollen allergen-induced surface expression of CD203c, CD63 and CD107a on CRTH2+ basophils: novel biomarkers for monitoring efficacy of allergen-specific immunotherapy. *World Allergy Organization*, 2012, vol. 5, suppl. 2, p. S49. <https://doi.org/10.1097/01.WOX.0000411842.94409.90>
15. Bühring H. J., Streble A., Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2004, vol. 133, no. 4, pp. 317–329. <https://doi.org/10.1159/000077351>
16. Eberlein-König B., Varga R., Mempel M., Darsow U., Behrendt H., Ring J. Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy. *Allergy*, 2006, vol. 61, no. 9, pp. 1084–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01122.x>
17. Abuaf N., Rostane H., Rajoely B., Gaouar H., Autegarden J. E., Leynadier F., Girot R. Comparison of two basophil activation markers CD63 and CD203c in the diagnosis of amoxicillin allergy. *Clinical and Experimental Allergy*, 2008, vol. 38, no. 6, pp. 921–928. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.02960.x>
18. Boumiza R., Monneret G., Forissier M.-F., Savoye J., Gutowski M.-C., Powell W. S., Bienvenu J. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clinical and Experimental Allergy*, 2003, vol. 33, no. 2, pp. 259–265. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01594.x>
19. Wolanczyk-Medrała A., Barg W., Liebhart J., Panaszek B., Nadobna G., Litwa M., Gogolewski G., Medrała W. Validation of basophil CD164 upregulation for pollen allergy diagnosis. *Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis*, 2010, vol. 58, no. 6, pp. 459–465. <https://doi.org/10.1007/s00005-010-0104-z>
20. Kneidinger M., Schmidt U., Rix U., Gleixner K. V., Vales A., Baumgartner C., Lupinek C., Weghofer M., Bennett K. L., Herrmann H., Schebesta A., Thomas W. R., Vrtala S., Valenta R., Lee F. Y., Ellmeier W., Superti-Furga G., Valent P. The effects of dasatinib on IgE receptor-dependent activation and histamine release in human basophils. *Blood*, 2008, vol. 111, no. 6, pp. 3097–3107. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-08-104372>
21. Sonneck K., Baumgartner C., Rebuzzi L., Marth K., Chen K. W., Hauswirth A. W., Florian S., Vrtala S., Bühring H. J., Valenta R., Valent P. Recombinant allergens promote expression of aminopeptidase-n (CD13) on basophils in allergic patients. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2008, vol. 21, no. 1, pp. 11–21. <https://doi.org/10.1177/039463200802100103>
22. Yoshimura C., Yamaguchi M., Iikura M., Izumi S., Kudo K., Nagase H., Ishii A., Walls A.F., Ra C., Iwata T., Igarashi T., Yamamoto K., Hirai K. Activation markers of human basophils: CD69 expression is strongly and preferentially induced by IL-3. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2002, vol. 109, no. 5, pp. 817–823. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.123532>
23. Bochner B. S., Sterbinsky S. A. Altered surface expression of CD11 and Leu 8 during human basophil degranulation. *Journal of Immunology*, 1991, vol. 146, no. 7, pp. 2367–2373.
24. Monneret G., Boumiza R., Gravel S., Cossette C., Bienvenu J., Rokach J., Powell W. S. Effects of prostaglandin D(2) and 5-lipoxygenase products on the expression of CD203c and CD11b by basophils. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2005, vol. 312, no. 2, pp. 627–634. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.074823>
25. MacGlashan Jr. D. Marked differences in the signaling requirements for expression of cd203c and cd11b versus cd63 expression and histamine release in human basophils. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2012, vol. 159, no. 3, pp. 243–252. <https://doi.org/10.1159/000332150>

26. Sabato V., Verweij M., Bridts C., De Clerck L., Stevens W., Schiavino D., Ebo D. Human Basophils express the inhibitory receptor CD300a (IRp60). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2011, vol. 127, no. 2, p. AB75. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.12.310>

27. Sabato V., Boita M., Shubber S., Bridts C. H., Shibuya A., De Clerck L. S., Falcone F. H., Ebo D. G. Mechanism of phosphatidylserine inhibition of IgE/FcεR1-dependent anaphylactic human basophil degranulation via CD300a. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2014, vol. 134, no. 3, pp. 734–737. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.03.029>

### Информация об авторах

*Романова Ирина Владимировна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [romanovairavlad@gmail.com](mailto:romanovairavlad@gmail.com)

*Гончаров Андрей Евгеньевич* – канд. мед. наук, директор. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [andrei.hancharou@gmail.com](mailto:andrei.hancharou@gmail.com)

*Дударева Наталья Ивановна* – канд. мед. наук, заведующий отделением. 10-я городская клиническая больница (ул. Уборевича, 73, 220096, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [lpu10gkb@rambler.ru](mailto:lpu10gkb@rambler.ru)

### Information about the authors

*Iryna U. Ramanava* – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus) E-mail: [romanovairavlad@gmail.com](mailto:romanovairavlad@gmail.com)

*Andrei Y. Hancharou* – Ph. D. (Med.), Director. The Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [andrei.hancharou@gmail.com](mailto:andrei.hancharou@gmail.com)

*Natalia I. Dudarava* – Ph. D. (Med.), Head of the Department. 10th City Clinical Hospital (73, Uborevich Str., 220096, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lpu10gkb@rambler.ru](mailto:lpu10gkb@rambler.ru)