

# Использование средств искусственного интеллекта для молекулярного анализа профилей сенсibilизации у больных atopическим дерматитом и бронхиальной астмой

Д.С. Фомина<sup>1-3</sup>, М.С. Лебединкина<sup>1</sup>, Е.А. Никитина<sup>1,2</sup>, А.Д. Душкин<sup>1,4</sup>, А.А. Чернов<sup>1</sup>, Ю.Д. Юхновская<sup>2</sup>, И.В. Евсегнеева<sup>2</sup>, А.В. Караулов<sup>2</sup>, М.А. Лысенко<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 123182 Москва, ул. Пехотная, 3;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

<sup>3</sup>НАО «Медицинский университет Астана»; Республика Казахстан, 010000 Астана, ул. Бейбитшилик, 49 а;

<sup>4</sup>ГБУЗ г. Москвы «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 143515 Московская обл., городской округ Красногорск, пос. Истра, 27;

<sup>5</sup>ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117513 Москва, ул. Островитянова, 1

**Контакты:** Марина Сергеевна Лебединкина [marina.ivanova0808@yandex.ru](mailto:marina.ivanova0808@yandex.ru)

**Введение.** В настоящее время обсуждается многообразие характеристик, которые должны учитываться при клиническом фенотипировании аллергических заболеваний. Одной из характеристик является спектр сенсibilизации. Важным этапом стало внедрение алергокомпонентов для выявления опосредованной реакции к специфическим иммуноглобулинам класса E.

**Цель исследования** – определить доминирующие фенотипы сенсibilизации у пациентов с тяжелыми atopическим дерматитом и бронхиальной астмой на основе результатов молекулярной диагностики методом ImmunoCAP Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC) с использованием машинного обучения.

**Материалы и методы.** В исследование включены 100 пациентов, являющихся кандидатами для проведения генно-инженерной биологической терапии по поводу тяжелых бронхиальной астмы ( $n = 63$ ), atopического дерматита ( $n = 20$ ), сочетания заболеваний ( $n = 17$ ). Аллергодиагностику проводили методом ImmunoCAP ISAC.

**Результаты.** По результатам исследования выделено 6 фенотипов. В 1-м фенотипе лидирующее место занимают пыльцевые молекулы (Amb a1, Phl p4) и перекрестные пищевые молекулы (Mal d1, Ara h8, Gly m4, Act d8, Pru p3), среди эпидермальных молекул встречается Fel d1, среди грибковых – Asp f6. Для 2-го фенотипа характерны грибковые (Asp f6), эпидермальные (Can f1, Can f5, Can f6, Fel d1), пищевые (Gad c1) и перекрестные пищевые молекулы (Mal d1, Pru p1, Ara h8, Cor a1.0401). В 3-м фенотипе отмечается сочетание ранее обозначенных молекул. В 4-м фенотипе обнаружены 3 группы алергенов: эпидермальные (Fel d1, Fel d2, Can f5, Can f6, Can f3), грибковые (Asp f6) и перекрестной пищевой аллергии (Jug r3, Pru p3). В 5-м и 6-м фенотипах преобладают эпидермальные молекулы (Can f1 и Fel d1), алергены истинной пищевой аллергии (Gad c1 и Gal d1 и Gad c1, Gal d1, Gal d3 соответственно).

**Заключение.** Выявленные молекулы могут быть использованы в клинической практике с целью разработки усеченных панелей алергочипов, что сделает их доступнее.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, atopический дерматит, фенотипирование, молекулярная диагностика, ISAC ImmunoCAP, машинное обучение

**Для цитирования:** Фомина Д.С., Лебединкина М.С., Никитина Е.А. и др. Использование средств искусственного интеллекта для молекулярного анализа профилей сенсibilизации у больных atopическим дерматитом и бронхиальной астмой. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(3):26–39.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-3-26-39>

## Artificial intelligence tools for molecular analysis of sensitization profiles in patients with atopic dermatitis and bronchial asthma

Daria S. Fomina<sup>1-3</sup>, Marina S. Lebedkina<sup>1</sup>, Ekaterina A. Nikitina<sup>1,2</sup>, Alexander D. Dushkin<sup>1,4</sup>, Anton A. Chernov<sup>1</sup>, Yulia D. Yukhnovskaya<sup>2</sup>, Irina V. Evsegneeva<sup>2</sup>, Alexander V. Karaulov<sup>2</sup>, Mariana A. Lysenko<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>City Clinical Hospital No. 52, Moscow Healthcare Department; 3 Pekhotnaya St., Moscow 123182, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Bld. 8, 2 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia;

<sup>3</sup>Astana Medical University; 49a Beybitshilik St., Astana 010000, Kazakhstan;

<sup>4</sup>Moscow City Oncology Hospital No. 62, Moscow Healthcare Department; 27 Istra, Krasnogorsk city district, Moscow region 143515, Russia;

<sup>5</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1A Ostrovityanova St., Moscow 117513, Russia

**Contacts:** Marina Sergeevna Lebedkina [marina.ivanova0808@yandex.ru](mailto:marina.ivanova0808@yandex.ru)

**Background.** The variety of characteristics that should be taken into account in the clinical phenotyping of allergic diseases is currently being discussed. One of such characteristics is the individual spectrum of sensitization. An important stage in modern allergology has become the introduction of molecules/components for the detection of mediated reactions to specific class E immunoglobulins.

**Aim.** To determine the dominant phenotypes of sensitization in patients with severe atopic dermatitis and bronchial asthma based on the results of molecular diagnostics by the ImmunoCAP Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC) method using machine learning.

**Materials and methods.** The study included 100 patients who were candidates for genetically engineered biological therapy ( $n = 63$ ), severe atopic dermatitis ( $n = 20$ ), or their combination ( $n = 17$ ) were included. Allergodiagnosis was performed by the ImmunoCAP ISAC method.

**Results.** Based on the results of the study, 6 phenotypes were identified. In phenotype 1, pollen molecules (Amb a1, Phl p4) and crossed reactive food molecules (Mal d1, Ara h8, Gly m4, Act d8, Pru p3) are the leading, among epidermal molecules only Fel d1 (epidermal allergen) and Asp f6 (fungal allergen) are found. For phenotype 2, the significant allergens were fungal (Asp f6), epidermal (Can f1, Can f5, Can f6, Fel d1), food (Gad c1) and cross reactive food molecules (Mal d1, Pru p1, Ara h8, Cor a1.0401). In phenotype 4, only 3 allergen groups are present: epidermal (Fel d1, Fel d2, Can f5, Can f6, Can f3), fungal (Asp f6), and cross food allergy (Jug r3, Pru p3). Phenotype 5 and 6 are dominated by epidermal molecules (Can f1 and Fel d1), true food allergies allergens (Gad c1 and Gal d1 and Gad c1, Gal d1, Gal d3, respectively). In phenotype 3, a combination of the previously labeled molecules is noted.

**Conclusion.** Each of the identified phenotypes reveals a different set of molecules that can be used in real clinical practice to develop reduced panels, making them more accessible.

**Keywords:** bronchial asthma, atopic dermatitis, component resolved diagnostic, ISAC ImmunoCAP

**For citation:** Fomina D.S., Lebedkina M.S., Nikitina E.A. et al. Artificial intelligence tools for molecular analysis of sensitization profiles in patients with atopic dermatitis and bronchial asthma. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(3):26–39.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-3-26-39>

### Введение

Одной из основных задач современной медицины является реализация индивидуального подхода в диагностических и лечебных алгоритмах, что продиктовано актуальностью внедрения канонов персонализированной медицины. Это концепция, согласно которой уникальные характеристики каждого пациента могут быть использованы для обеспечения применения только тех методов лечения, которые с наибольшей вероятностью будут эффективны для данного конкретного человека. Таким образом, пациент получает правильное лечение в нужное время, чтобы максимизировать эффективность терапии и минимизировать риски, заболеваемость, смертность и стоимость для здравоохранения [1, 2]. Фенотипирование

пациентов с аллергическими заболеваниями невозможно без определения точного спектра сенсibilизации, что становится возможным с использованием результатов инновационных подходов применения молекулярной компонентной аллергодиагностики. Данные подходы – новое поколение радиоаллергосорбентного тестирования, полностью удовлетворяющего требованиям персонализированного подхода к диагностике аллергических заболеваний [3]. Мультиплексный анализ (ImmunoCAP Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC)) представляет собой фиксированный набор из 112 рекомбинантных или очищенных нативных компонентов аллергенов, полученных из более чем 50 источников [4]. Молекулярная диагностика имеет ряд бесспорных преимуществ, повышая

ее точность, помогая отделить истинную сенсibilизацию от перекрестной, уточняя спектр необходимых элиминационных мероприятий и диеты в рамках лечебного алгоритма [5]. Особенно важно корректное описание спектра сенсibilизации при тяжелых формах аллергических заболеваний, таких как тяжелый атопический дерматит (ТАТД) и тяжелая атопическая бронхиальная астма (ТБА). Именно при наличии критериев тяжелого течения заболевания имеются ограничения для проведения диагностики *in vivo*, а использование показателей специфических иммуноглобулинов класса Е к неинфекционным аллергенам может служить биологическим маркером не только на этапе диагностики, но и лечения. В связи с этим в качестве метода выбора может быть использована современная молекулярная компонентная алергодиагностика. Разработка индивидуальных протоколов ведения пациентов с учетом уникального спектра сенсibilизации, возможно, опосредованно позволит снизить бремя тяжелых форм заболеваний.

**Цель исследования** – определить доминирующие фенотипы сенсibilизации у пациентов с ТАТД и ТБА на основе результатов молекулярной диагностики методом ISAC ImmunoCAP с использованием машинного обучения.

### Материалы и методы

**Дизайн исследования.** Одноцентровое проспективное исследование.

#### Критерии соответствия

Критерии включения:

- пациенты от 18 лет;
- пациенты, являющиеся кандидатами на назначение генно-инженерной биологической терапии с подтвержденным ранее атопическим фенотипом ТБА, ТАТД или сочетанием данных заболеваний;
- наличие ТБА неконтролируемого течения, несмотря на соблюдение максимально оптимизированного лечения [6];
- наличие ТАТД с распространенным или диффузным характером поражения кожных покровов, текущего с длительными обострениями, редкими и непродолжительными периодами ремиссии (частота обострений – 5 раз в год и более, длительность ремиссии 1–1,5 мес) [7];
- для формирования 3-й группы – наличие сочетания ТБА и ТАТД.

Критерии невключения:

- отсутствие сенсibilизации при ранее проведенной верификации диагноза;
- легкая/среднетяжелая БА как основное заболевание;
- легкий/среднетяжелый АтД как основное заболевание.

**Условия проведения.** Исследование проводили на базе специализированного референс-центра г. Москвы.

**Продолжительность исследования.** Исследование проведено с апреля по август 2023 г.

**Описание медицинского вмешательства.** Проанализированы данные истории болезни 100 пациентов, являющихся кандидатами для проведения генно-инженерной биологической терапии по поводу ТБА ( $n = 63$ ) – 1-я группа, ТАТД ( $n = 20$ ) – 2-я группа или их сочетания ( $n = 17$ ) – 3-я группа. Анализ спектра сенсibilизации производили с помощью алергочипа ImmunoCAP ISAC. Данный анализ был выполнен пациентами амбулаторно в добровольном порядке с предоставлением результатов исследования. Ход исследования представлен на рис. 1.

**Методы регистрации исходов.** При проведении молекулярной диагностики проводили оценку статистической значимости различных компонентов аллергенов категориальным способом. При выявлении уровня алергокомпонента в сыворотке выше 0,3 ISU-E регистрировали наличие сенсibilизации, ниже 0,3 ISU-E – ее отсутствие.

**Статистический анализ.** Балансировку данных проводили с использованием метода синтетического увеличения числа миноритарного класса. Итоговый набор данных содержал 189 наблюдений (табл. 1).

**Таблица 1.** Результат работы метода синтетического увеличения числа миноритарного класса

Table 1. The result of the synthetic minority over-sampling technique method

Группа Group	Число пациентов Number of patients		Прирост синтетических данных, % Increase in synthetic data, %
	исходное initial	итоговое final	
1-я 1 <sup>st</sup>	63	63	0
2-я 2 <sup>nd</sup>	20	63	+68,25
3-я 3 <sup>rd</sup>	17	63	+73,02

Фенотипирование пациентов произведено с использованием алгоритмов работы искусственного интеллекта. В основе разделения пациентов на фенотипы лежала агломеративная кластеризация (agglomerative clustering) [8]. Последняя проста в реализации: она строит иерархию кластеров, что позволяет анализировать данные на разных уровнях детализации, а количество кластеров определяется в процессе анализа иерархической структуры. В данном исследовании использовали интерпретатор

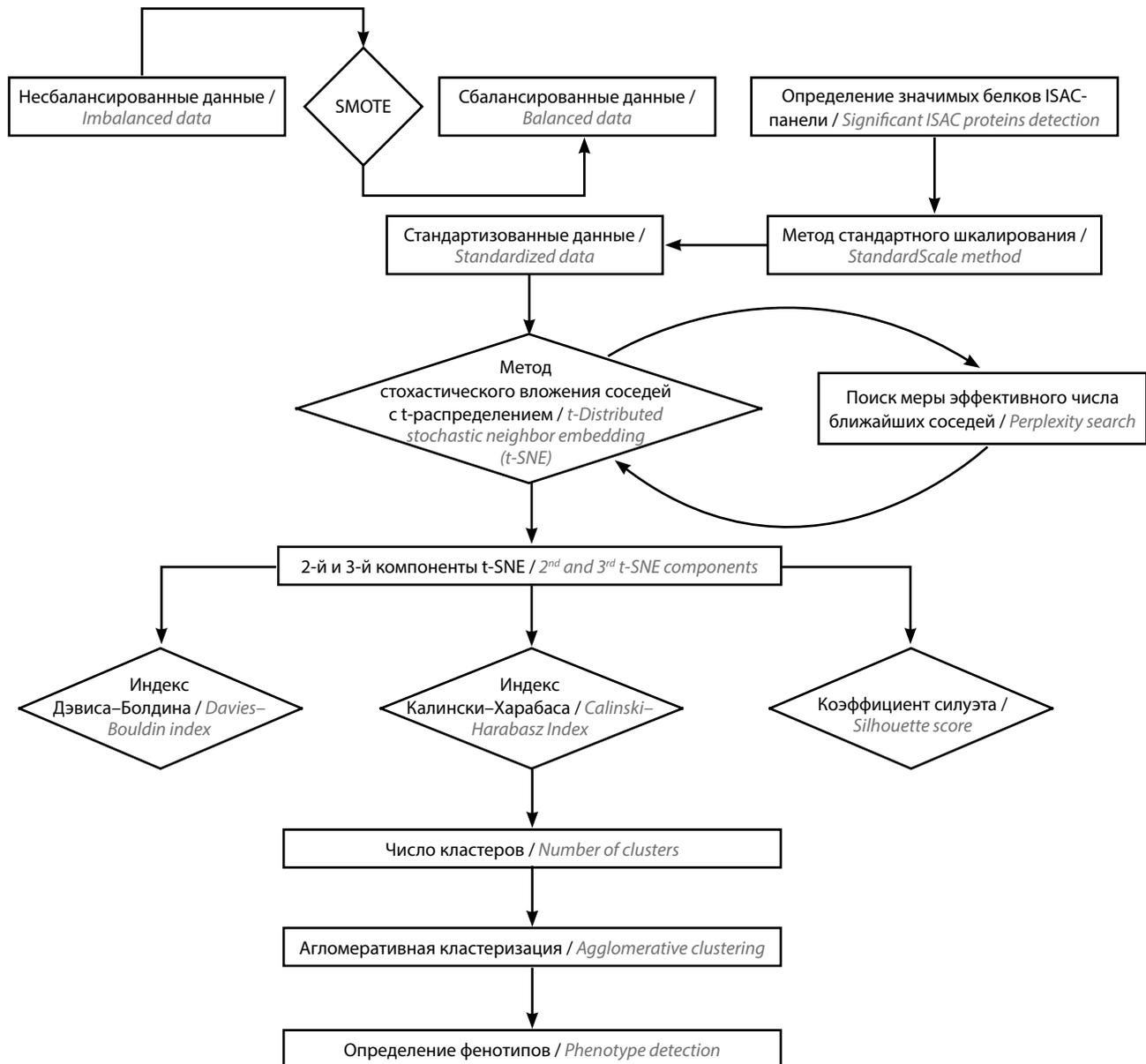


Рис. 1. Схема исследования

Fig. 1. Study design

Visual Studio Code v.1.76.1 (Universal) и язык программирования Python v.3.10. При первичной обработке данных применяли пакеты для статистической обработки (SciPy, NumPy, Pandas, Sklearn) и визуализации (Matplotlib, Seaborn, Plotly). Сбор и хранение данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft (пакет Excel v.16.75).

Для описания количественных признаков, подчиняющихся нормальному распределению, использовали среднее значение (M), стандартное отклонение (SD) и 95 % доверительный интервал (CI 95 %). При распределении, отличном от нормального, использовали медиану (Me) и значения межквартильного интервала (Q<sub>1-3</sub>) квартилей. Категориальные признаки описыва-

ли с использованием процентных долей. Для оценки статистической значимости различий между категориальными признаками использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йетса. Для оценки статистической значимости количественных признаков между группами при отличном от нормального распределения в данных применяли критерий Краскела-Уоллиса. Для оценки значимости различий между конкретными группами использовали тест Данна.

Корреляционный анализ признаков проводился с использованием построения тепловой карты корреляционной матрицы. Для оценки силы корреляционной связи применяли коэффициент корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

Уровень статистической значимости ( $p$ ) был установлен 5 % (0,05).

Сравнение уровня белка-аллергена проводили на основе его доли относительно группы белков-аллергенов по формуле (1)

$$\text{Доля белка-аллергена} = \frac{ISU(\text{белка-аллергена})}{\sum ISU(\text{группы белков-аллергенов})} \quad (1)$$

где  $ISU$  (белка-аллергена) – ISAC standardised units IgE белка-аллергена;  $\sum ISU$  – сумма из всей группы белков-аллергенов.

Стандартизацию данных для лучшей работы машинного обучения (ML) проводили методом стандартного шкалирования (StandardScale) по формуле (2)

$$X_{\text{stand}} = \frac{X - \text{Mean}(X)}{SD(X)}, \quad (2)$$

где  $X_{\text{stand}}$  – масштабированное значение доли белка-аллергена;  $X$  – доля белка-аллергена по формуле (1);  $\text{Mean}(X)$  – среднее арифметическое доли белка-аллергена во всей выборке;  $SD(X)$  – стандартное

отклонение значений доли белка-аллергена во всей выборке.

Оценку оптимальных значений гиперпараметров для снижения размерности данных при агломеративной кластеризации проводили с использованием значения дивергенции Кульбака–Лейблера (КЛ). Понижение размерности данных проводили при помощи метода стохастического вложения соседей с  $t$ -распределением ( $t$ -SNE). Основным гиперпараметром для  $t$ -SNE является perplexity (мера эффективного числа ближайших соседей).

Определение оптимального числа кластеров при фенотипировании пациентов проводили с использованием коэффициента силуэта (КС), индекса Дэвиса–Болдина (индекс ДБ), индекса Калински–Харабаса (индекс КХ). Оптимальное число кластеров считали при достижении целевых значений 2–3 из 3 метрик. При поиске оптимального числа кластеров целевыми значениями являются максимальные значения КС, индекс КХ и минимальное значение индекса ДБ.

Для воспроизводимости экспериментов машинного обучения во всех методах использовали параметр  $\text{random\_state} = 42$ .

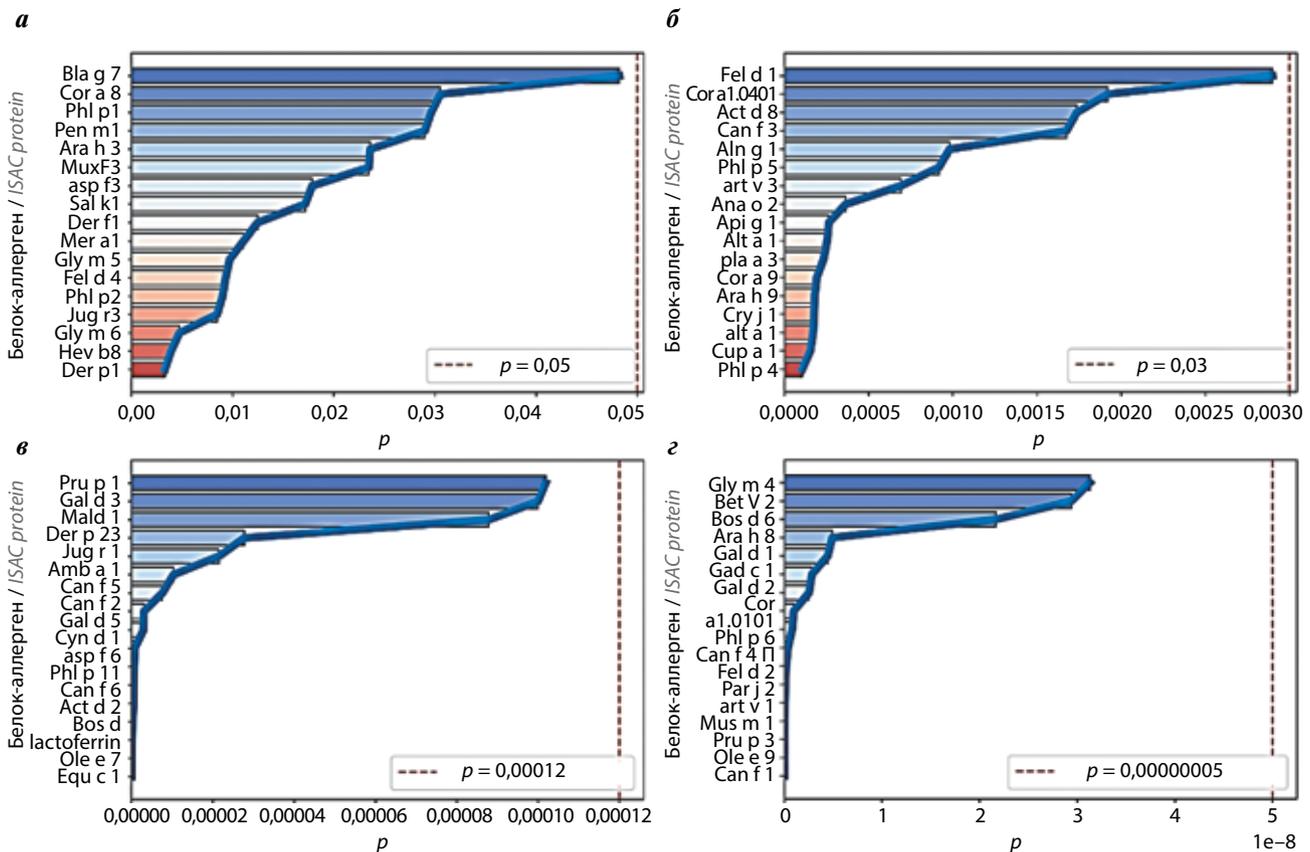


Рис. 2. Значимость белков-аллергенов из панели ISAC ImmunoCAP: а – от 0,00 до 0,05; б – от 0,000 до 0,003; в – от 0,00000 до 0,00012; г – от  $0 \times 10^{-7}$  до  $5 \times 10^{-7}$

Fig. 2. Significance of allergen proteins from the ISAC ImmunoCAP panel: а – from 0,00 to 0,05; б – from 0,000 to 0,003; в – from 0,00000 to 0,00012; г – from  $0 \times 10^{-7}$  to  $5 \times 10^{-7}$

### Результаты

На I этапе проводили поиск наиболее значимых белков-аллергенов из панели ISAC. При сравнении доли белка-аллергена из всей панели (86 белков-аллергенов) определены 68 наиболее значимых из них (рис. 2). Среди последних выявлены такие аллергены, как Fel d 1, Asp f 6, Can f 1.

На II этапе из списка выявленных аллергенов удалены незначимые белки-аллергены, а значимые использовали для создания дву- и трехмерных таблиц с использованием t-SNE. После запуска цикла по поиску максимального значения дивергенции КЛ рассчитано значение perplexity, равное 16 (рис. 3).

Для поиска оптимального числа кластеров использовали диапазон подбора от 2 до 10. Оптимальное число кластеров по данным индекса ДБ и КС равно 6 (рис. 4 и табл. 2).

Результатом работы агломеративной кластеризации стало разделение пациентов на 6 фенотипов (рис. 5).

Аналогичный результат был получен для фенотипирования пациентов на основе 3 компонент t-SNE (рис. 6).

Таблица 2. Пересечение значений целевых метрик в зависимости от оптимального числа кластеров

Table 2. Intersection of target metrics values depending on the optimal number of clusters

Кластер / Cluster	Индекс Дэвиса–Болдина / Davis–Boldin index	Индекс Калински–Харабаса / Calinski–Harabasz index	Коэффициент силуэта / Silhouette score
2	1,940273	43,26288	0,182053
3	1,604465	44,09988	0,162132
4	1,394817	50,52562	0,186347
5	1,306113	52,73681	0,189505
6	1,205791	51,4918	0,196371
7	1,19617	49,24912	0,1844
8	1,190088	47,98359	0,177021
9	1,161925	47,59743	0,172594
10	1,165223	47,69457	0,171981

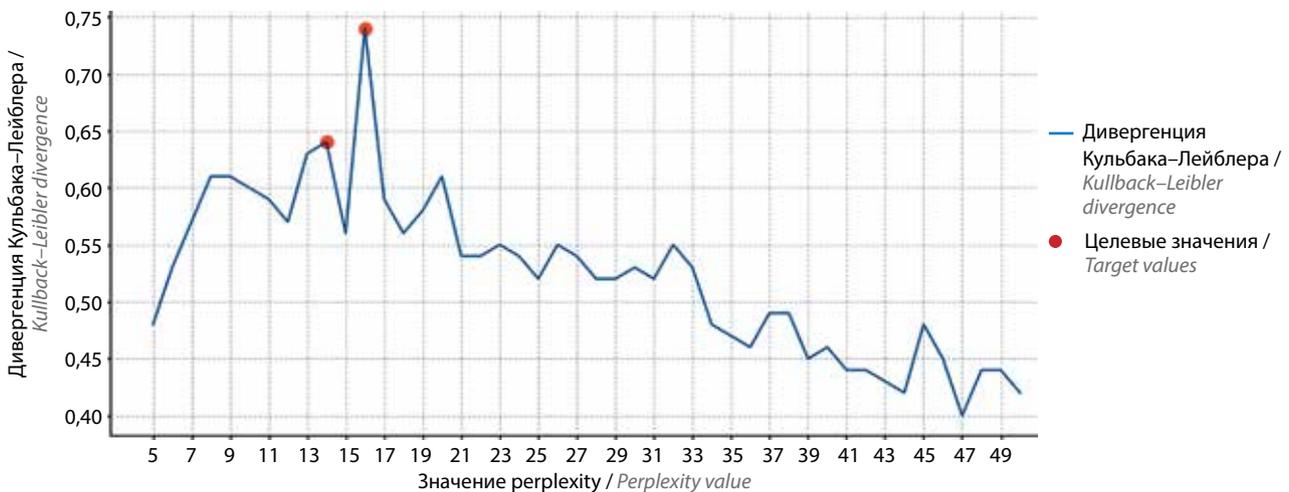


Рис. 3. Зависимость дивергенции Кульбака–Лейблера от значения perplexity для 2 компонент стохастического вложения соседей с t-распределением

Fig. 3. Kullback–Leibler divergence dependence on perplexity value for 2 components by t-distributed stochastic neighbor embedding

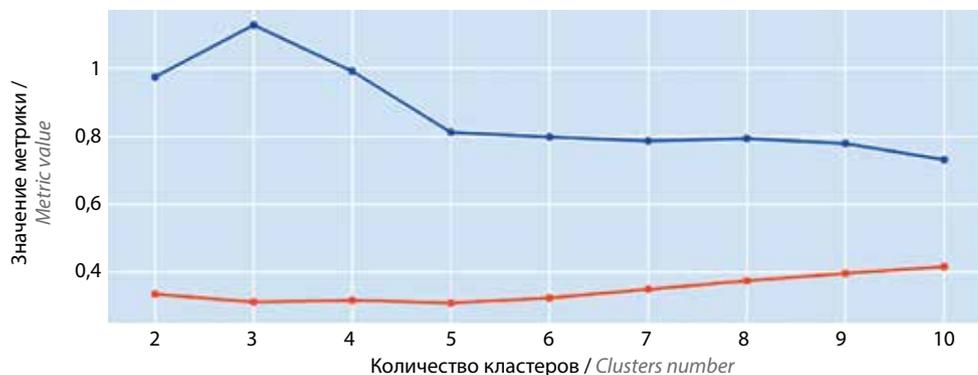


Рис. 4. Процесс поиска оптимального числа кластеров с использованием индекса Дэвиса–Болдина (график синим) и коэффициента силуэта (график красным) по 2 компонентам

Fig. 4. The process of finding the optimal number of clusters using Davis–Boldin index (graph in blue) and silhouette score (graph in red) on 2 components

На основе кластеризации каждому пациенту присвоен соответствующий фенотип. Затем проводили оценку значимости белка-аллергена в зависимости от фенотипа. Распределение пациентов по фенотипам представлено в табл. 3.

**Таблица 3.** Описательная статистика распределения пациентов по фенотипам

Table 3. Descriptive statistics of patient distribution by phenotype

Кластер Cluster	Описательная статистика Descriptive statistic			
	n	%	граница CI 95 % limit CI 95 %	
			нижняя lower	верхняя upper
1	39	20,63	20,45	20,82
2	44	23,28	23,09	23,47
3	31	16,4	16,23	16,57
4	35	18,52	18,34	18,7
5	26	13,76	13,6	13,91
6	14	7,41	7,29	7,53

**Примечание.** CI 95 % – 95 % доверительный интервал.  
Note. CI 95 % – 95 % confidence interval.

После фенотипирования определены значимые различия между 38 белками-аллергенами (рис. 7).

Для описания фенотипов пациентов была построена тепловая карта процентной доли белка-аллергена внутри каждого фенотипа (рис. 8).

При post-hoc-анализе групп внутри фенотипов определены значимые различия между 1-м и 2-м фенотипами ( $p = 0,0033$ ), 1-м и 5-м ( $p = 0,0161$ ), 1-м и 6-м

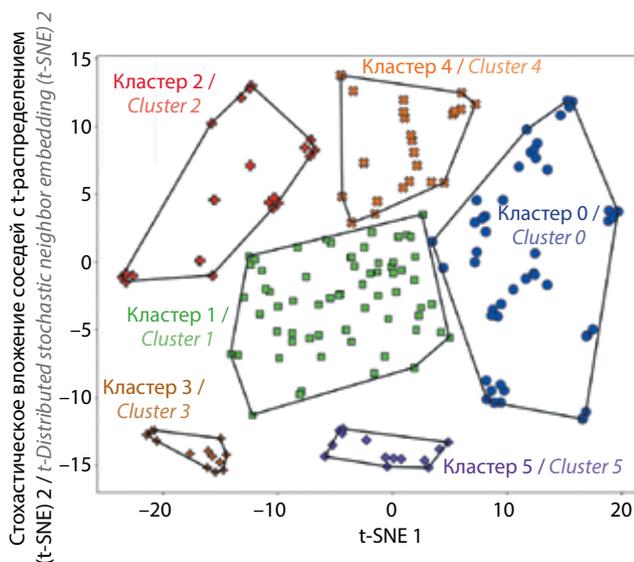


Рис. 5. Агломеративная кластеризация по 2 компонентам

Fig. 5. Agglomerative clustering by 2 components

( $p = 0,0098$ ), 2-м и 4-м ( $p = 0,0026$ ), 4-м и 5-м фенотипами ( $p = 0,0438$ ).

На рис. 9 представлено распределение ТАТД, ТБА и ТАТД + ТБА в зависимости от фенотипа пациентов. При оценке частоты регистрации ТАТД, ТБА и ТАТД + ТБА в зависимости от фенотипа пациентов обнаружены значимые различия ( $p < 0,0001$ ).

В 1-м фенотипе преобладала группа ТАТД (59 %), на II месте была группа ТБА (30,8 %), а на III – группа ТАТД + ТБА (10,3 %).

Во 2-м фенотипе преобладала группа ТАТД + ТБА (52,3 %), на II месте – группа ТАТД (29,5 %), а на III – группа ТБА (18,2 %).

В 3-м фенотипе распределение групп было равно сопоставимым. Пациенты из группы ТБА регистрировались в 38,7 % случаев. Группа ТАТД + ТБА встречалась в 32,3 % случаев, группа ТАТД – в 29 % случаев.

В 4-м фенотипе преобладала группа ТБА (60 %), на II месте была группа ТАТД (29,5 %), а на III – группа ТАТД + ТБА (14,3 %).

В 5-м фенотипе преобладала группа ТБА + ТАТД (50 %). Группы ТБА и ТАТД встречались в 23,1 и 26,9 % случаев соответственно.

В 6-м фенотипе преобладала группа ТАТД + ТБА (57,1 %), на II месте встречались пациенты из группы ТБА (28,6 %), пациенты из группы ТАТД регистрированы в 14,3 % случаев.

Для визуализации вклада белка-аллергена с кумулятивным эффектом при фенотипировании использовали диаграмму Парето (рис. 10).

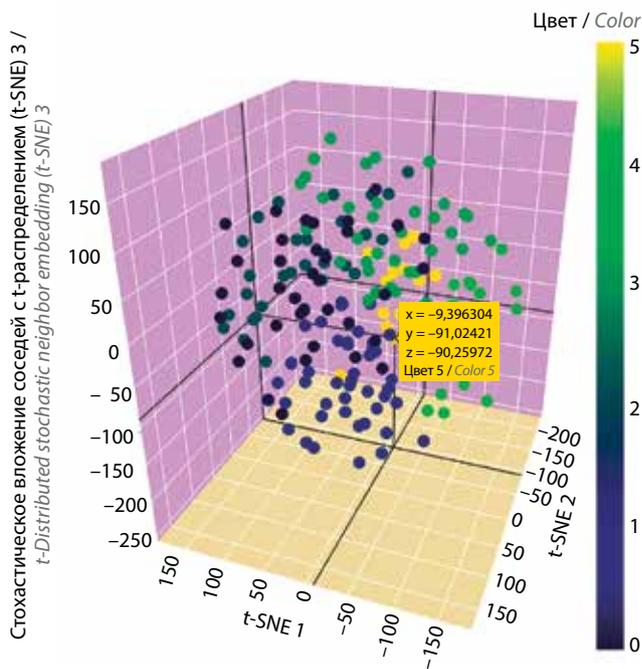


Рис. 6. Агломеративная кластеризация по 3 компонентам

Fig. 6. Agglomerative clustering by 3 components

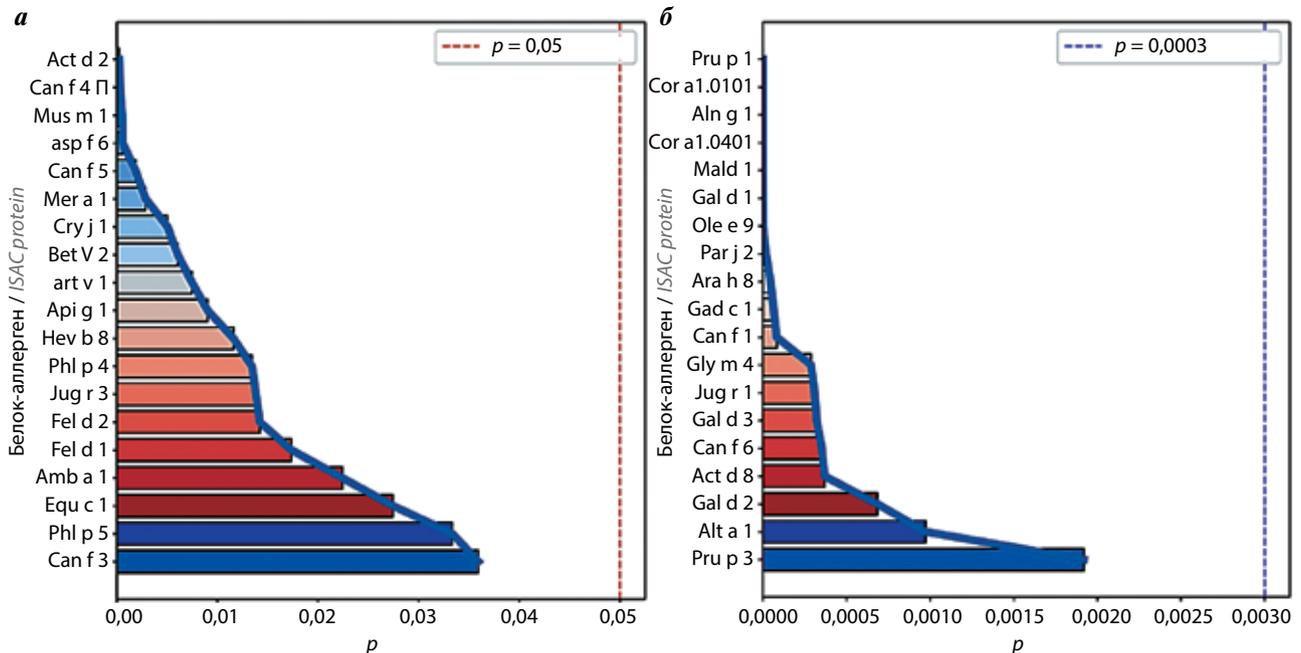


Рис. 7. Значимость белков-аллергенов после фенотипирования пациентов: а – от 0,00 до 0,05; б – от 0,000 до 0,003

Fig. 7. Significance of allergen proteins after phenotyping patients: а – from 0,00 to 0,05; б – from 0,000 to 0,003

Таблица 4. Топ-10 значимых белков-аллергенов в зависимости от фенотипа

Table 4. Top 10 significant allergen proteins according to phenotype

Ранжирование белков-аллергенов Allergen protein ranking	Фенотип Phenotype					
	1	2	3	4	5	6
Топ-1 Top-1	Fel d 1	Asp f 6	Fel d 1	Fel d 1	Can f 1	Fel d 1
Топ-2 Top-2	Mal d 1	Fel d 1	Gad c 1	Asp f 6	Fel d 1	Can f 1
Топ-3 Top-3	Ara h 8	Mal d 1	Can f 1	Ara h 8	Asp f 6	Gad c 1
Топ-4 Top-4	Can f 1	Pru p 1	Mal d 1	Can f 5	Mal d 1	Can f 5
Топ-5 Top-5	Amb a 1	Gad c 1	Art v 1	Fel d 2	Ole e 9	Gal d 1
Топ-6 Top-6	Gly m 4	Can f 1	Pru p 1	Can f 4	Phl p 4	Phl p 5
Топ-7 Top-7	Act d 8	Can f 5	Ara h 8	Can f 6	Gad c 1	Asp f 6
Топ-8 Top-8	Phl p 4	Ara h 8	asp f 6	Can f 3	Gly m 4	Gal d 3
Топ-9 Top-9	Asp f 6	Cor a1.0401	Phl p 4	Jug r 3	Pru p 1	Art v 1
Топ-10 Top-10	Pru p 3	Can f 6	Can f 5	Pru p 3	Gal d 1	Can f 4

Исходя из кумулятивного эффекта был сформирован топ-10 значимых белков-аллергенов для каждого фенотипа (табл. 4).

### Обсуждение

В результате фенотипирования и кластеризации обнаружено, что в разных фенотипах преобладают разные патологии.

При рассмотрении фенотипа 1, где преобладающей патологией является ТАТД (59 %), а также ТБА (30,8 %), обращает на себя внимание наличие молекул, ответственных за развитие сенсibilизации к пыльцевым компонентам (Amb a 1, Phl p 4). При этом белок Phl p 4 может обуславливать перекрестную реактивность с молекулами Amb a 1, Сун 4 [9]. В данном фенотипе также встречается широкий спектр перекрестных PR-10 молекул (Mal d 1, Ara h 8, Gly m 4, Act d 8, Pru p 3), что также может свидетельствовать о наличии перекрестной пищевой аллергии у пациентов с тяжелыми аллергическими заболеваниями, особенно с атопическим дерматитом. На I месте по значимости – мажорный аллерген кошки Fel d 1. Иных эпидермальных молекул в данном фенотипе нет. Грибковый аллерген asp f 6 в отличие от фенотипа 2, где он занимает I место, в данном фенотипе занимает только IX место, что может быть обусловлено высоким распространением бронхиальной астмы.

При анализе значимых аллергенов для 2-го фенотипа, в котором лидирующее место занимает комбинация ТАТД и ТБА белков, на первом месте находится молекула asp f 6. По данным литературы, данная

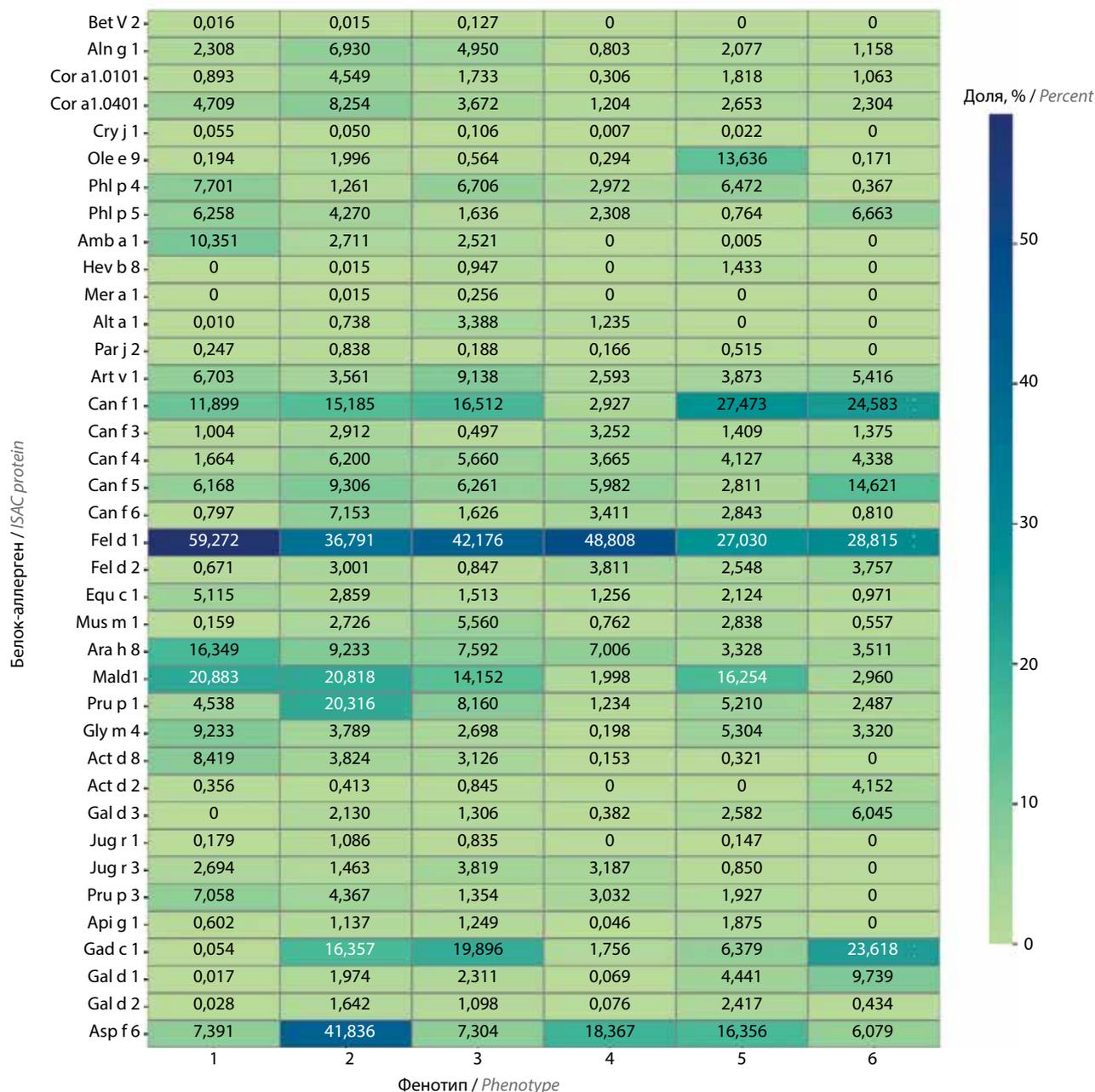


Рис. 8. Доля белка-аллергена в зависимости от фенотипа

Fig. 8. Protein-allergen fraction depending on phenotype

молекула часто сочетается с ТАТД, а также свидетельствует о раннем его дебюте до 5 лет [10, 11]. Грибковые аллергены у пациентов с атопическим дерматитом играют роль в повреждении кожного барьера [12], а также могут служить предиктором развития пищевой аллергии [13]. Также в данном фенотипе обращает на себя внимание наличие сенсibilизации к пищевым молекулам – Mal d 1, Pru p 1, Ara h 8, Cor a 1.0401. Данная группа белков относится к белкам PR-10 семейства, отвечающим за развитие перекрестной пищевой аллергии [14]. Интересным является то, что сама молекула Bet V 1 по результатам модели-

рования не влияет на формирование фенотипов тяжелых аллергических заболеваний, вероятно, ввиду своей повсеместной распространенности [15], однако она может обуславливать развитие перекрестной пищевой аллергии к широкому спектру продуктов, прежде всего у пациентов с атопическим дерматитом. Данный факт важно учитывать при определении спектра элиминационных мероприятий. При подобном фенотипе также обращает на себя внимание сенсibilизация к парвальбумину Gad c 1, что коррелирует с данными распространенности пищевой аллергии у взрослых [16, 17]. При этом влияние иных

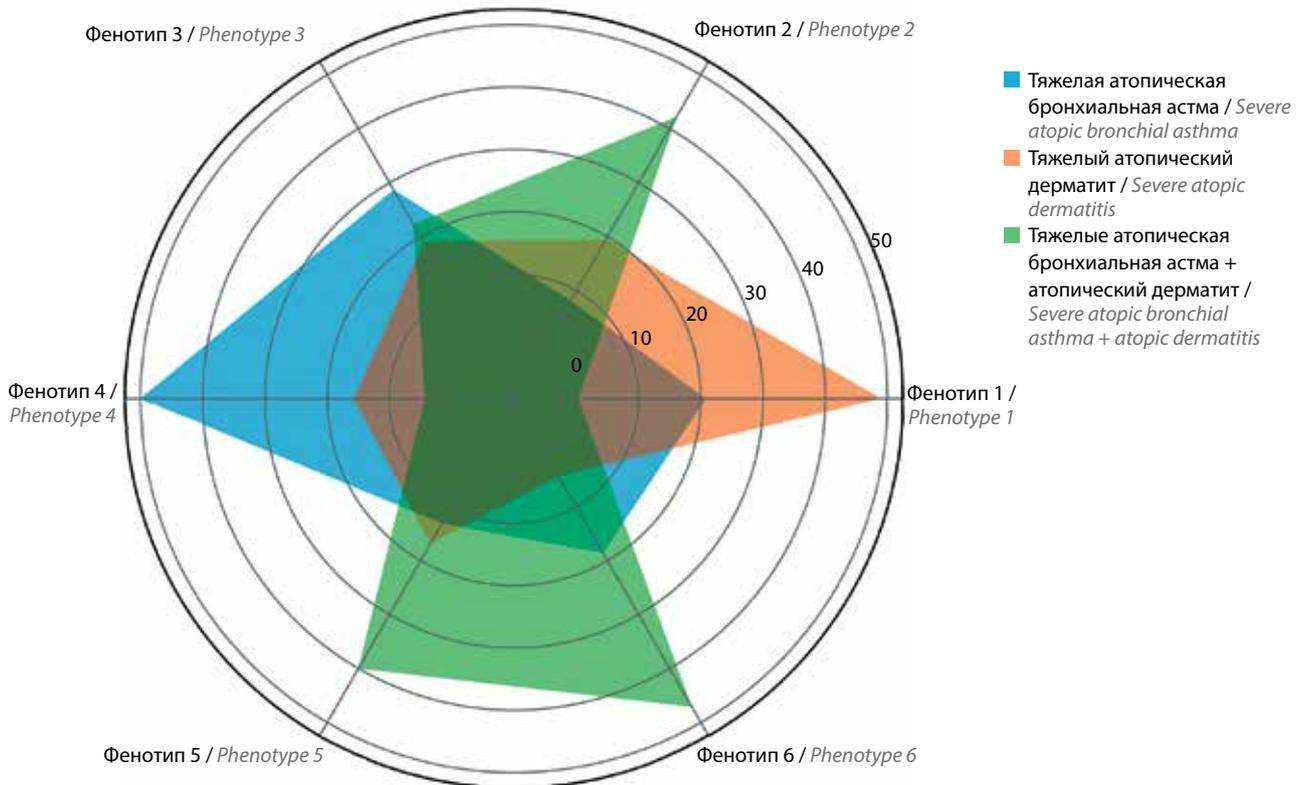


Рис. 9. Распределение исследуемых групп в зависимости от ISAC-фенотипа

Fig. 9. Distribution of the study groups according to ISAC phenotype

пищевых продуктов (яиц, молока, сои и др.) на фенотип с преобладанием тяжелого atopического дерматита не выявлено. Значимой также оказалась сенсibilизация к алергокомпонентам собаки (Can f 1, Can f 5, Can f 6). При этом сенсibilизация к Can f 6 будет ответственна за развитие кросс-реактивности с гомологичными молекулами лошади и кошки [18]. В данном фенотипе также встречается сенсibilизация к мажорному алергену кошки Fel d 1.

При рассмотрении 4-го фенотипа, где преобладает ТБА (60%), доминирующими молекулами являются эпидермальные алергены (Fel d 1, Fel d 2, Can f 5, Can f 6, Can f 3). При этом, помимо ранее упомянутой перекрестной молекулы Can f 6, в данном фенотипе встречается Fel d 2, которая также является перекрестной [19], играющей особую роль в патогенезе развития синдрома «кошка – свинина» [20], что нужно учитывать при разработке элиминационных мероприятий. Показано, что эпидермальные алергены играют роль в развитии atopического марша [21], бронхальной астмы в детском возрасте [22], в ее тяжести [23]. На II месте в данном фенотипе находится молекула Asp f 6. Принимая во внимание наличие ТБА как преобладающего заболевания, в дифференциальном ряду необходимо учитывать алергический бронхолегочный аспергилез [24]. Среди молекул перекрестной пищевой алергии встречаются

только 2 – Jug r 3, Pru r 3, занимающие последнее по значимости место.

В 5-м и 6-м фенотипах в 1/2 и более случаев преобладает комбинированная патология (50,0 и 57,1% соответственно). Схожий момент, объединяющий оба эти фенотипа, – то, что преобладающие молекулы, занимающие 2 первых места, – это Can f 1 и Fel d 1, являющиеся мажорными алергенами. В 6-м фенотипе также выявлены Can f 5 и 4. Как упоминалось ранее, эпидермальные алергены могут играть роль в развитии atopического марша. С этим может быть связано преобладание в данном фенотипе сочетанной патологии. В 5-м и 6-м фенотипах обращает на себя внимание широкое распространение молекул, отвечающих за истинную пищевую алергию (Gad c 1 и Gal d 1 и Gad c 1, Gal d 1, Gal d 3 соответственно). При назначении элиминационной диеты следует учесть, что Gal d 1 является термостабильной молекулой яйца, а Gal d 3 – термолабильной. В 5-м фенотипе, в отличие от 6-го фенотипа, обнаружены молекулы перекрестной пищевой алергии (Mal d 1, Gly m 4, Pru p 1). В 6-м фенотипе обнаружена пыльцевая сенсibilизация к молекулам Phl p 5 и Art v 1, которые являются мажорными алергенами. При этом Phl p 5 имеет широкую перекрестную реактивность с семейством мятликовых [9], что нужно учитывать при разработке элиминационных мероприятий. В 5-м фенотипе также

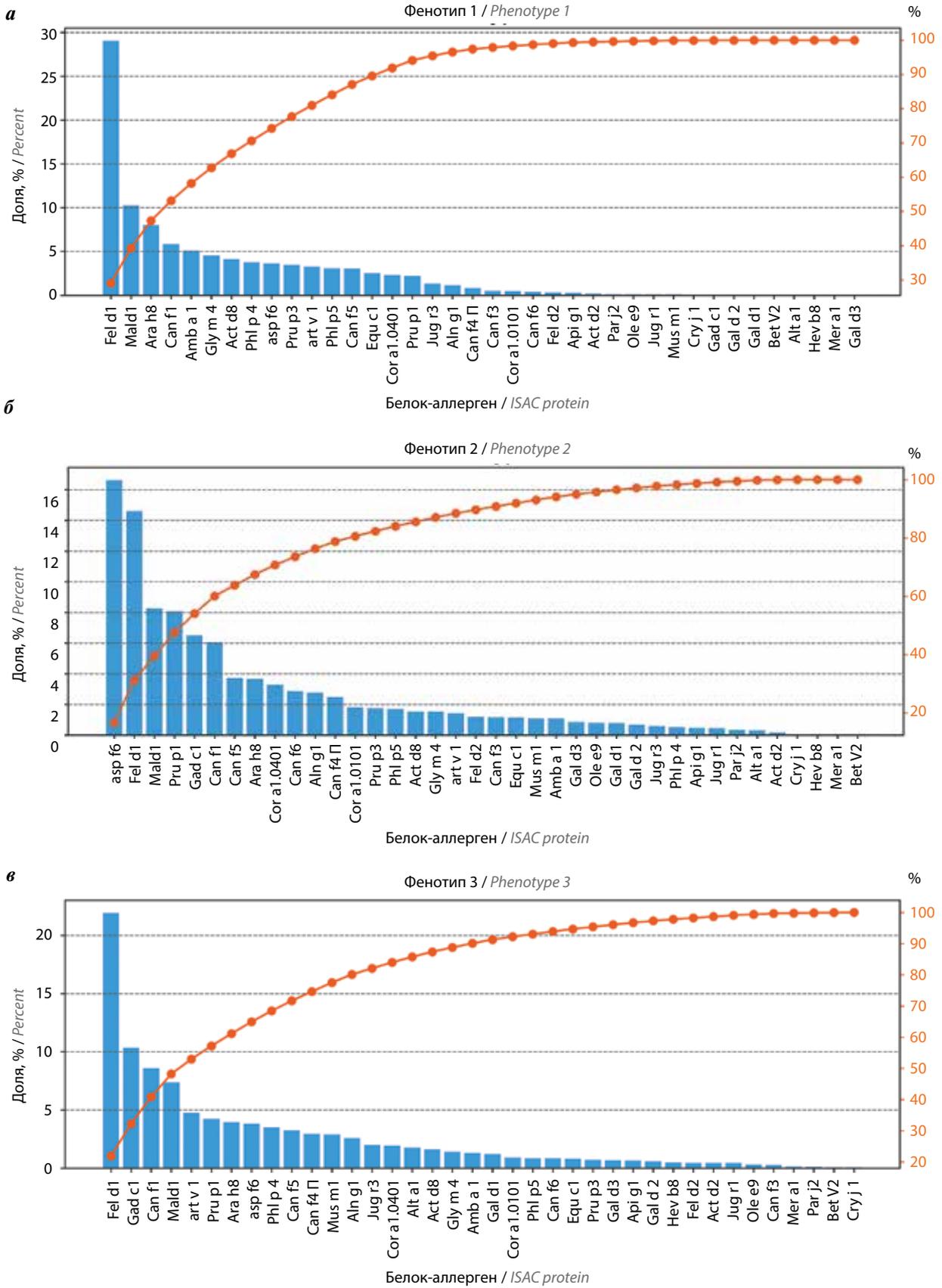


Рис. 10. Влияние белка-аллергена на фенотипы 1–3 (а–в) с кумулятивным эффектом  
 Fig. 10. Effect of protein allergen on phenotypes 1–3 (a–b) with cumulative effect

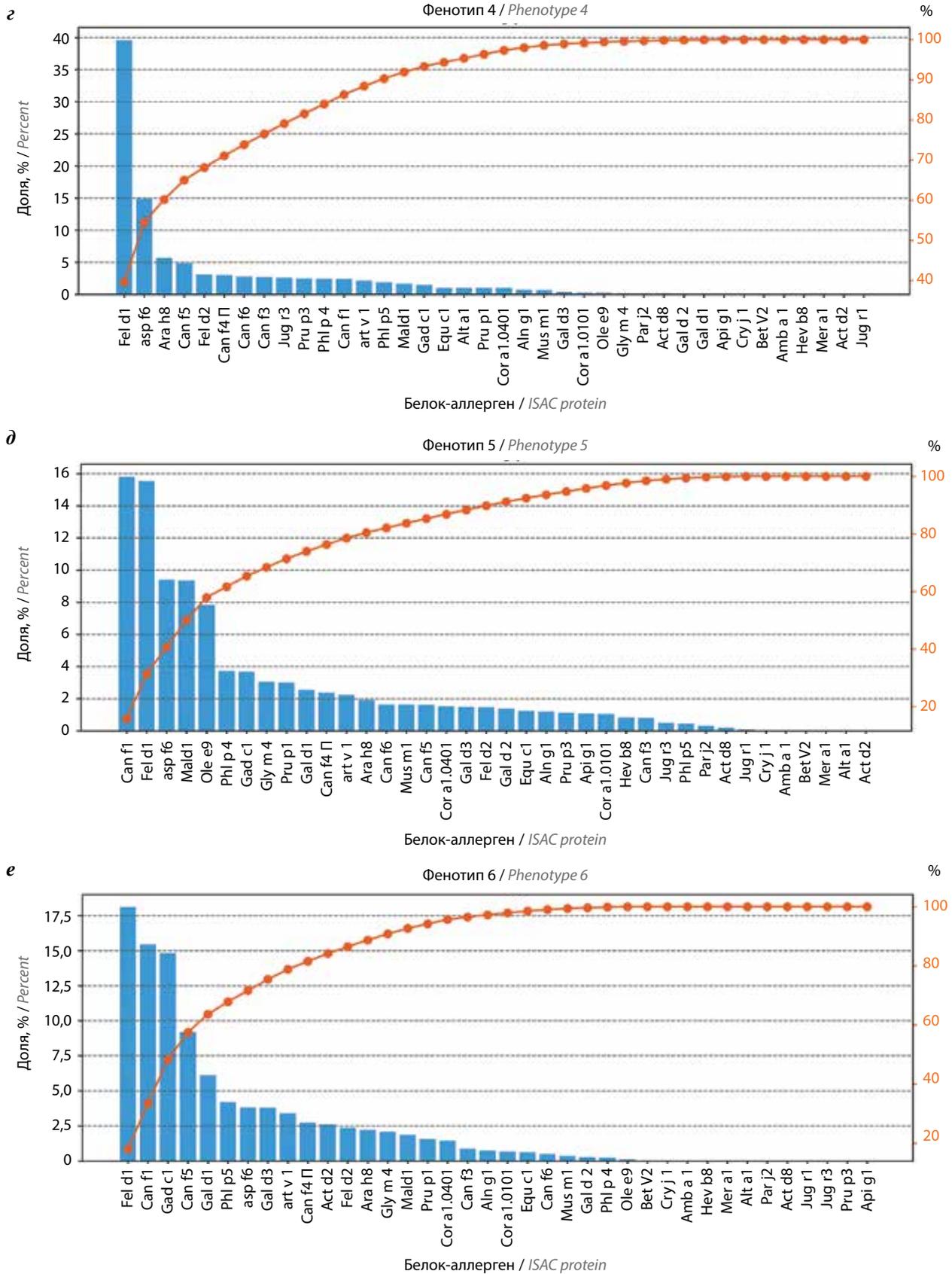


Рис. 10. (Окончание). Влияние белка-аллергена на фенотипы 4–6 (z–e) с кумулятивным эффектом  
 Fig. 10. (Ending). Effect of protein allergen on phenotypes 4–6 (z–e) with cumulative effect

обнаружены пыльцевые молекулы, однако они отличны — Ole e 9, Phl p 4. Стоит упомянуть о том, что молекула Ole e 9 ассоциирована с системными и локальными реакциями на пищу, возникновением АТД, позволяет различать умеренную и тяжелую формы заболевания [25]. Молекула Asp f 6 находится в 5-м фенотипе на III месте, в 6-м — только на VI месте.

В 3-м фенотипе, в котором все группы распределены в относительно равных пропорциях, отмечается сочетание ранее обозначенных молекул: на I месте находится эпидермальный аллерген Fel d 1, далее на III и последнем месте — Can f 1 и Can f 5 соответственно. В данном фенотипе встречаются и молекулы, характерные для пыльцевой сенсибилизации (Art v 1, Phl p 4) и перекрестной пищевой аллергии (Mal d 1, Pru p 1, Ara h 8), а также молекула истинной пищевой аллергии (Gad c 1). Кроме того, в этом фенотипе, как и в остальных, есть молекула грибковой сенсибилизации — Asp f 6.

### Заключение

Таким образом, при помощи подобного статистического анализа в каждом из выявленных фено-

типов обнаруживается свой набор молекул, которые могут быть использованы в реальной клинической практике. Во-первых, на основании полученных результатов возможна разработка более усеченного варианта аллергочипов, которые будут менее затратными для изготовления и станут более доступны для аллергообследования пациентов с тяжелыми аллергическими заболеваниями. Во-вторых, при более широком распространении аллергокомпонентной диагностики возможна разработка более четких рекомендаций по соблюдению элиминационных мероприятий (диеты, быта и т.д.), поскольку недостаточные меры будут приводить к обострению и отсутствию контроля основного заболевания, а чрезмерные ограничения — к снижению качества жизни, недостатку важных микроэлементов и питательных веществ. В-третьих, в дальнейшем возможно рассмотрение роли того или иного фенотипа сенсибилизации в ответе на проводимую генно-инженерную биологическую терапию у пациентов с тяжелыми аллергическими заболеваниями. Использование подобного статистического анализа может стать первым шагом к применению искусственного интеллекта в аллергологии.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Paller A.S., Spergel J.M., Mina-Osorio P., Irvine A.D. The atopic march and atopic multimorbidity: many trajectories, many pathways. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143(1):46–55. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.11.006
2. Mersha T.B., Hershey K., Gurjit K. Precision medicine in allergic disorders. In: Middleton's allergy: principles and practice. 9<sup>th</sup> ed., vol. 2. New York: Elsevier, 2020. Pp. 1441–1450.
3. Valenta R., Duchene M., Vrtala S. et al. Recombinant allergens for immunoblot diagnosis of tree-pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88(6):889–94. DOI: 10.1016/0091-6749(91)90245-J
4. van Hage M., Hamsten C., Valenta R. ImmunoCAP assays: pros and cons in allergology. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140(4):974–7. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.05.008
5. Vaňková R., Čelakovská J., Bukač J. et al. Sensitization to molecular components in 104 atopic dermatitis patients in relation to subgroups of patients suffering from bronchial asthma and allergic rhinitis. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2020;63(4):164–75. DOI: 10.14712/18059694.2020.59
6. Venkatesan P. 2023 GINA report for asthma. *Lancet Respir Med* 2023;11(7):589. DOI: 10.1016/S2213-2600(23)00230-8
7. Атопический дерматит. Проект клинических рекомендаций. 2020 г. РААКИ. URL: [https://raaci.ru/dat/pdf/KR/atopic\\_dermatitis\\_2020.pdf?ysclid=li7geerqe3115604531](https://raaci.ru/dat/pdf/KR/atopic_dermatitis_2020.pdf?ysclid=li7geerqe3115604531). Atopicheskij dermatit. Proekt klinicheskikh rekomendacij. 2020 g. RAАКИ. URL: [https://raaci.ru/dat/pdf/KR/atopic\\_dermatitis\\_2020.pdf?ysclid=li7geerqe3115604531](https://raaci.ru/dat/pdf/KR/atopic_dermatitis_2020.pdf?ysclid=li7geerqe3115604531)
8. Ackermann M.R., Blömer J., Kuntze D., Sohler C. Analysis of agglomerative clustering. *Algorithmica* 2010;69(1):184–215. DOI: 10.1007/s00453-012-9717-4
9. Ščevková J., Vašková Z., Sepšiová R. et al. Relationship between Poaceae pollen and Phl p 5 allergen concentrations and the impact of weather variables and air pollutants on their levels in the atmosphere. *Heliyon* 2020;6(7):e04421. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04421
10. Čelakovská J., Bukač J., Cermáková E. et al. Analysis of results of specific IgE in 100 atopic dermatitis patients with the use of multiplex examination ALEX2-Allergy Explorer. *Int J Mol Sci* 2021;22(10):5286. DOI: 10.3390/IJMS22105286
11. Scala E., Abeni D., Guerra E.C. et al. β-1,3-glucanase rOle e 9 and MnSOD rAsp f 6 IgE reactivity are the signature of atopic dermatitis in the Mediterranean area. *Clin Exp Allergy* 2020;50(4):487–98. DOI: 10.1111/cea.13555
12. Gaitanis G., Magiatis P., Hantschke M. et al. The Malassezia genus in skin and systemic diseases. *Clin Microbiol Rev* 2012;25(1):106–41. DOI: 10.1128/CMR.00021-11
13. Ott H., Fölster-Holst R., Merk H.F. et al. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol* 2010;20(1):54–61. DOI: 10.1684/ejd.2010.0810
14. Aglas L., Soh W.T., Kraiem A. et al. Ligand binding of PR-10 proteins with a particular focus on the Bet v 1 allergen family. *Curr Allergy Asthma Rep* 2020;20(7):25. DOI: 10.1007/s11882-020-00918-4
15. Biedermann T., Winther L., Till S.J. et al. Birch pollen allergy in Europe. *Allergy* 2019;74(7):1237–48. DOI: 10.1111/all.13758
16. Iweala O.I., Choudhary S.K., Commins S.P. Food allergy. *Curr Gastroenterol Rep* 2018;20(5):17. DOI: 10.1007/s11894-018-0624-y
17. Warren C.M., Jiang J., Gupta R.S. Epidemiology and burden of food allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2020;20(2):6. DOI: 10.1007/s11882-020-0898-7

18. Nilsson O.B., Binnmyr J., Zoltowska A. et al. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy* 2012;67(6):751–7. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2012.02826.x
19. Niespodziana K., Focke-Tejkl M., Linhart B. et al. A hypoallergenic cat vaccine based on Fel d 1-derived peptides fused to hepatitis B PreS. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(6):1562–70.e6. DOI:10.1016/j.jaci.2011.02.004
20. Barradas Lopes J., Labrador-Horrilo M., Bartolomé B., Cunha L. The role of molecular allergens in the diagnosis of cat-pork syndrome: an unusual case report. *Acta Med Port* 2022;35(5):388–91. DOI: 10.20344/amp.15483
21. Čelakovská J., Ettlrová K., Ettler K. et al. Sensitization to aeroallergens in atopic dermatitis patients: association with concomitant allergic diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29(8):1500–5. DOI: 10.1111/jdv.12891
22. Nordlund B., Konradsen J.R., Kull I. et al. IgE antibodies to animal-derived lipocalin, kallikrein and secretoglobulin are markers of bronchial inflammation in severe childhood asthma. *Allergy* 2012;67(5):661–9. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2012.02797.x
23. Pónyai G., Hidvégi B., Németh I. et al. Contact and aeroallergens in adulthood atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22(11):1346–55. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2008.02886.x
24. Muthu V., Sehgal I.S., Dhooira S. et al. Utility of recombinant *Aspergillus fumigatus* antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis: a systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *Clin Exp Allergy* 2018;48(9):1107–36. DOI: 10.1111/cea.13216
25. Wójciewowska M., Żbikowska-Gotz M., Marek-Józefowicz L. et al. Allergic phenotypes in adult patients with atopic dermatitis, determined with the ISAC test (ImmunoCAP ISAC). *Postepy Dermatol Alergol* 2018;35(4):351–9. DOI: 10.5114/ada.2018.77664

#### Вклад авторов

Д.С. Фомина: обзор литературы, сбор и анализ источников литературы, редактирование текста статьи;

М.С. Лебедкина, Е.А. Никитина: обзор литературы, сбор и анализ источников литературы, написание текста статьи, редактирование статьи;

А.Д. Душкин, А.А. Чернов: сбор и обработка статистических данных, формирование результатов исследования, редактирование статьи;

Ю.Д. Юхновская: сбор источников литературы, редактирование статьи;

А.В. Караулов, И.В. Евсегнеева, М.А. Лысенко: курирование работы, редактирование статьи.

#### Authors' contribution

D.S. Fomina: a literature review, a literature collection and analysis, editing of the article;

M.S. Lebedkina, E.A. Nikitina: a literature review, a literature collection and analysis, writing an article, editing of the article;

A.D. Dushkin, A.A. Chernov: collection and processing of statistical data, formation of research results, editing of the article;

Y.D. Yukhnovskaya: literature collection, editing of the article;

A.V. Karaulov, I.V. Evsegneeva, M.A. Lysenko: project supervision, editing of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

Д.С. Фомина / D.S. Fomina: <https://orcid.org/0000-0002-5083-6637>

М.С. Лебедкина / M.S. Lebedkina: <https://orcid.org/0000-0002-9545-4720>

Е.А. Никитина / E.A. Nikitina: <https://orcid.org/0000-0002-0865-8355>

А.Д. Душкин / A.D. Dushkin: <https://orcid.org/0000-0002-8013-5276>

А.А. Чернов / A.A. Chernov: <https://orcid.org/0000-0001-6209-387X>

Ю.Д. Юхновская / Yu.D. Yukhnovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-0928-2054>

И.В. Евсегнеева / I.V. Evsegneeva: <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

А.В. Караулов / A.V. Karaulov: <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

М.А. Лысенко / M.A. Lysenko: <https://orcid.org/0000-0001-6010-7975>

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Все участники исследования были проинформированы об исследовании, принимали в нем участие добровольно и подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, протокол № 01вн/0423 от 12.04.2023.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All study participants were informed about the study, took part in it voluntarily and signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee, Protocol No. 01vn/0423 dated 12.04.2023.

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

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-75-30016 «Аллергочип РФ».

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation through the grant No. 23-75-30016 “AllergochipRUS”.

Статья поступила: 25.01.2024. Принята в печать: 15.08.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2024.

Article received: 25.01.2024. Accepted for publication: 15.08.2024. Published online: 00.00.2024.