

УДК 576.8.097.2/3-022.8:634.33

А.С. Прилуцкий, Ю.А. Лыгина

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

СЛУЧАЙ АЛЛЕРГИИ К ЛИМОНУ: ВЫЯВЛЕНИЕ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ И ТЕРМОСТАБИЛЬНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ

Употребление в пищу частей плода лимона является одной из значимых причин аллергических реакций как у детей, так и у взрослых [1, 2]. Таксономически лимон относится к роду *Citrus* семейства *Rutaceae*, и, наряду с другими представителями этого рода, может вызывать разнообразные клинические проявления аллергии – атопический и контактный дерматит, респираторные и гастроинтестинальные симптомы и др. [3, 4].

Из современных литературных источников известно о существовании 3 основных аллергенов лимона, выступающих причинами аллергических реакций. К ним относятся вляются гермино-подобный белок *Cit 1 1*, неспецифический белок-переносчик липидов (БПЛ) *Cit 1 3* и запасной глобулин семян цитрин [5-7]. Данные аллергены устойчивы к воздействию термической обработки, а также к протеолитическим ферментам желудочно-кишечного тракта.

Ранее нами впервые в мире было установлено присутствие в цедре и мякоти лимона новых термолабильных аллергенов и/или их детерминант, способных вызывать проявления аллергии в виде орального аллергического синдрома (ОАС) [8]. Указанные аллергенные эпитопы теряли способность провоцировать аллергические реакции после «щадящего» режима термообработки, что свидетельствует о конформационной природе их аллергенности, т. к. данный режим обработки разрушает третичную структуру белковых молекул [9].

Целью нашего исследования была характеристика аллергенов лимона (в том числе их степени термостабильности), вызвавших аллергические реакции у пациентки с поливалентной сенсибилизацией к различным пищевым, бытовым и пыльцевым аллергенам.

Больная К., 45 лет, обратилась на консультацию с явлениями хронического обструктивного бронхита и бронхиальной астмы на различные бытовые (клещи домашней пыли, перьевые подушки, моющие средства с резким запахом), пыльцевые (цветение вишни, сливы, абрикоса, персика, яблони в апреле-мае и сорных трав в

августе-сентябре) и пищевые аллергены (лимон, куриное яйцо, чеснок, уксус, кукурузные палочки, хурма, томат).

Семейный аллергологический анамнез отягощен со стороны матери. Матери выставлен диагноз «бронхиальная астма» в 36 лет, спектр специфической сенсибилизации и аллергии у нее не изучался.

С возраста 41 года пациентка стала отмечать реакции на лимон в виде одышки, затруднения дыхания на выдохе через 1-2 часа после употребления. Указанные симптомы возникали при употреблении 2-3 ломтиков лимона с кожурой несколько раз за день. Проходили они, как правило, в течение до 12 часов без применения антигистаминных препаратов. На момент осмотра, со слов пациентки, в течение 2 недель она каждый день пила чай с 1 ломтиком лимона, реакций не отмечает.

В время осмотра пациентка предъявляла жалобы на заложенность носа, чувство отеков слизистой полости рта, носоглотки, чихание, затруднение дыхания при пребывании в сырых или пыльных помещениях, на холодном воздухе, при вдыхании сильных запахов (духи, моющие средства с хлором, химической отдушкой).

Пациентка нами обследована. Обследование, в соответствии с современными подходами к диагностике аллергических заболеваний, включало в себя осмотр, опрос и анкетирование с помощью специализированных опросников, иммуно-аллергологическое исследование и кожные тесты [10]. Концентрацию общего, специфических IgE (IgE и sIgE) и интерлейкинов 4, 5 (ИЛ-4, ИЛ-5) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем, разработанных ООО «УкрмедДон» (г. Донецк). Указанные ИФА-тест-системы обладают высокой аналитической чувствительностью, сравнимой с импортными

тест-системами ведущих мировых производителей [11].

В общем анализе крови отмечена эозинофилия (эозинофилы – 5 %). В сыворотке крови определены повышенные уровни общего IgE, С3а-компонента комплемента, ИЛ-4 и ИЛ-5 (табл. 1.). При исследовании специфических IgE методом иммуноферментного анализа выявлено повышение уровня sIgE к комплексу аллергенов лимона (экстракту целого плода). При этом, уровень sIgE к комплексу экстрагированных антигенов апельсина и мандарина приближался к диагностическому. Установлено диагностически значимое повышение концентрации sIgE к грейпфруту. Необходимо отметить, что клинических реакций на другие цитрусовые, кроме лимона, не отмечалась.

Кожные тесты проводились по методике прик+прик-теста с нативными и термически обработанными аллергенами частей плода лимона (цедра, мякоть, косточка). Термическая обработка осуществлялась с использованием 2 режимов: 1-й – 60 минут при 65°C; 2-й – 30 минут при 95°C (для исследования степени термостабильности аллергенов). Для проведения обработки применялся разработанный нами твердотельный термостат (ТЛ-04) с возможностью нагрева до 120°C (погрешность задаваемой темпера-

туры не более ±0,5°C) и автоматической регуляцией времени инкубации. Прик+прик-тесты выполняли на коже внутренней поверхности предплечья, протирая место нанесения аллергена 70 % этиловым спиртом, после его подсыхания, согласно имеющимся в мировой литературе требованиям. В качестве положительного и отрицательного контроля использовались соответственно 0,01 % раствор гистамина и разводящий раствор. Положительной проба считалась при наличии папулы диаметром 3 мм и более [12].

Пациентке проведен прик+прик-тест со свежими и обработанными с использованием двух режимов термообработки аллергенами различных частей плода лимона. При этом установлено наличие аллергической реакции на свежие цедру, мякоть и косточку (табл. 2.). В пробе с цедрой лимона, обработанной в «щадящем» режиме (65°C в течение 60 мин) кожные реакции на эту часть плода определяться перестали. В то же время кожная реакция на аллергены мякоти и косточки лимона, обработанные с помощью этого температурного режима, сохранилась. При этом необходимо указать, что 1-й режим тепловой обработки существенно не повлиял на размеры кожной реакции (как папулы, так и гиперемии), вызванной аллергенами мякоти. Папула и гиперемия на аллергены косточ-

Результаты серологического исследования

Таблица 1.

Обследованный пациент	Концентрация:							
	интерлейкинов, пг/мл		С3а, нг/мл	иммуноглобулинов E, МЕ/мл				
	4	5		общего	специфических:			
			лимон		апельсин	мандарин	грейпфрут	
К.	32,8	27,6	96,4	351,3	0,36	0,33	0,32	0,38
Норма	<6,15	<8,05	<93,5	≤ 100	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35

Результаты прик+прик-теста со свежими и термически обработанными частями плода лимона.

Таблица 2.

Обследованный пациент	Режим обработки	Размер (мм) кожной реакции:						Контроль (+) с гистамином	Контроль (-) с разводящим раствором
		Исследуемая часть плода лимона:							
		цедра		мякоть		косточка			
		папула	гиперемия	папула	гиперемия	папула	гиперемия		
	0	10	30	6	23	8	30		
К., 45 лет	1	0	0	5	18	4	8	5	2
	2	1	0	5	25	0	0		

Примечание: 1 – термическая обработка при 65°C в течение 60 мин, 2 – термическая обработка при 95°C в течение 30 минут.

ки лимона, подвергшиеся термической обработке в этом режиме, имели заметно меньшие размеры ($\geq 50\%$), чем на свежую косточку. При обработке частей плода в течение 30 мин при 95°C кожная положительная реакция регистрировалась уже только на аллергены (антигенные детерминанты) мякоти лимона. При этом размеры как папулы, так и гиперемии сохранялись на том же уровне в сравнении с комплексом нативных аллергенов.

Известно, что обработка пищевых продуктов (проваривание, использование в выпечке, микроволновое нагревание, приготовление под давлением) может изменить аллергенность пищевых продуктов из-за изменения пространственной структуры и физико-химических свойств белков [9, 13]. Характер и степень таких изменений зависят от вида тепловой обработки, температуры и продолжительности ее, а также от характеристик белка и физико-химических условий его среды, приводя к повышенной, пониженной или неизменной IgE-связывающей активности пищевых аллергенов. Нетепловая обработка, например, очистка от кожуры овощей и фруктов, также влияет на содержание в них аллергенов [9, 13].

Необходимо отметить, что проведенные нашей пациентке прик+прик-тесты показывают наличие аллергии не только к нативным аллергенам лимона (всех частей плода), но и к термически обработанным с помощью двух режимов белковым молекулам аллергена или аллергенов (их эпитопов), содержащихся в его мякоти. По свидетельствам имеющихся в мире научных публикаций, термостабильные гермино-подобные (PR-16) белки (Cit I 1) лимона в основном присутствуют в его кожуре [5, 14]. Исследование локализации и распределения БПЛ (PR-14) лимона (Cit I 3) показало, что он обычно концентрируется также в кожуре плода [6]. Однако, исходя из результатов проведенного нами прик+прик-теста со нативными и термически обработанными с использованием 2-х режимов частями плода лимона, можно утверждать о присутствии в его мякоти значительного количества термостабильных аллергенов, вызвавших аллергическую реакцию у нашей пациентки. При этом, причинные аллергены, содержащиеся в цедре плода лимона, были термолабильными, о чем свидетельствует исчезновение кожной реакции после тер-

мической обработки даже в «щадящем» режиме, разрушающем только третичную структуру белка. В предыдущих работах нами были описаны термолабильные аллергены лимона, вызывающие проявления аллергии в форме орального аллергического синдрома [8, 15]. В описанном случае симптомы аллергии также могли быть вызваны этими аллергенными белками или их детерминантами.

Следует отметить, что результаты работы ясно показывают, что белки, вызывающие аллергию, могут иметь различную устойчивость к термической обработке. Проба с аллергенами косточки лимона, обработанными при 65°C в течение 60 минут, выявила снижение выраженности кожной реакции, а при термообработке в режиме 95°C в течение 30 минут реакция полностью исчезла. Поскольку в мировой литературе описан только один аллерген косточки лимона – белок запаса семян цитрин, являющийся термостабильным, результаты нашего исследования позволяют утверждать о присутствии в косточке лимона других антигенных детерминант, обладающих чувствительностью к термической обработке.

Выводы

1. Результаты проведенных нами исследований показывают, что в различных частях плода лимона присутствуют не только термостабильные, но и термолабильные аллергены, способные вызывать аллергические реакции, что подтверждается данной работой и ранее опубликованными нами работами.

2. Дифференцированный подход к термической обработке с использованием двух температурных режимов позволил выявить в косточке лимона присутствие аллергенного белка, отличающегося по своей устойчивости от описанного в мировых публикациях запасного протеина семян цитрина – нового аллергена (аллергенных детерминант), не описанного ранее.

3. Предложенный нами, впервые в мире, метод дифференцированного определения степени термоустойчивости аллергенов (аллергенных детерминант) является важным методическим подходом, позволяющим более тщательно исследовать аллергены из различных источников, с возможностью выявления и скринингования новых аллергенных молекул.

А.С. Прилуцкий, Ю.А. Лыгина

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

**СЛУЧАЙ АЛЛЕРГИИ К ЛИМОНУ:
ВЫЯВЛЕНИЕ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ И ТЕРМОСТАБИЛЬНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ**

Лимон входит в число продуктов, являющихся причинными факторами пищевой аллергии. Описан клинический случай аллергической реакции на употребление в пищу лимона в виде одышки, затруднения дыхания на выдохе, у женщины 45 лет. Установлено присутствие как термостабильных, так и термолabileльных аллергенов в различных частях плода (мякоть, цедра, косточка). С помощью разработанного нами дифференцированного метода термической обработки аллергенов, определено наличие в косточке лимона нового аллергенного белка (аллергенной де-

терминанты), обладающей меньшей термостабильностью, чем известный по мировым научным публикациям аллерген косточки цитрин. Указанный подход дифференцированного определения термостабильности аллергенов или их эпитопов может быть применен не только к изучению аллергенных белков, присутствующих в различных частях плода лимона, но и аллергенов из других источников (фрукты, овощи, продукты животного происхождения и др.).

Ключевые слова: аллергия, лимон, термостабильность, клинический случай, диагностика, аллерген.

A.S. Prilutsky, Yu.A. Lygina

SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk

**CASE OF ALLERGY TO LEMON:
IDENTIFICATION OF THERMOLABLE AND THERMOSTABLE ALLERGENS**

Lemon is one of the causative factors in food allergies. A clinical case of an allergic reaction to eating lemon in the form of shortness of breath, difficulty breathing on exhalation, in a 45-year-old woman, is described. The presence of both thermostable and thermolabile allergens was established in various parts of the fruit (pulp, rind, bone). With the help of the differentiated method of heat treatment of allergens developed by us, the presence in the lemon seed of a new allergenic protein (allergenic determinant), which has less thermal stability than the

citrus seed allergen known from world scientific publications, was determined. This approach to the differentiated determination of the thermal stability of allergens or their epitopes can be applied not only to the study of allergenic proteins present in various parts of the lemon fruit, but also allergens from other sources (fruits, vegetables, animal products, etc.).

Key words: allergy, lemon, heat stability, clinical case, diagnosis, allergen.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сидорович О.И., Лусс Л.В. Пищевая аллергия: принципы диагностики и лечения. Медицинский совет. 2016; 16: 141-147.
2. Пампура А.Н., Варламов Е.Е., Конюкова Н.Г. Пищевая аллергия у детей раннего возраста. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2016; 95 (3): 152-157.
3. Naruse A., Osako J., Tsuruta D., Yanagihara S., Ishii M., Kobayashi H. A case of anaphylaxis caused by lemon sorbet. *Journal of Allergy and Therapy*. 2012; 3 (1): 112-117. doi: 10.4172/2155-6121.1000112
4. Прилуцкий А.С., Лыгина Ю.А. Аллергия к лимону: обзор литературы. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2019; 4: 4-14.
5. Pignataro V., Canton C., Spadafora A., Mazzuca S. Proteome from lemon fruit flavedo reveals that this tissue produces high amounts of the Cit s 1 germin-like isoforms. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010; 58 (12): 7239-7244. doi: 10.1021/jf1006825
6. Ahrazem O., Ibáñez M. D., López-Torrejón G., Sánchez-Monge R., Sastre J., Lombardero M., Barber D., Salcedo G. Lipid transfer proteins and allergy to orange. *International archives of allergy and immunology*. 2005; 137 (3): 201-210. doi: 10.1159/000086332
7. Kayode O.S., Prado N., Thursfield D.J., Till S.J., Siew L. Q.C. Lemon seed allergy: a case presentation. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2020; 16 ; 32. doi: 10.1186/

REFERENCES

1. Sidorovich O.I., Luss L.V. Pishchevaya allergiya: principy diagnostiki i lecheniya. *Medicinskij sovet*. 2016; 16: 141-147 (in Russian).
2. Pampura A.N., Varlamov E.E., Konyukova N.G. Pishchevaya allergiya u detej rannego vozrasta. *Pediatrics. Zhurnal im. G. N. Speranskogo*. 2016; 95 (3): 152-157 (in Russian).
3. Naruse A., Osako J., Tsuruta D., Yanagihara S., Ishii M., Kobayashi H. A case of anaphylaxis caused by lemon sorbet. *Journal of Allergy and Therapy*. 2012; 3 (1): 112-117. doi: 10.4172/2155-6121.1000112
4. Priluckij A.S., Lygina Yu.A. Allergiya k limonu: obzor literatury. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii*. 2019; 4: 4-14 (in Russian).
5. Pignataro V., Canton C., Spadafora A., Mazzuca S. Proteome from lemon fruit flavedo reveals that this tissue produces high amounts of the Cit s 1 germin-like isoforms. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010; 58 (12): 7239-7244. doi: 10.1021/jf1006825
6. Ahrazem O., Ibáñez M.D., López-Torrejón G., Sánchez-Monge R., Sastre J., Lombardero M., Barber D., Salcedo G. Lipid transfer proteins and allergy to orange. *International archives of allergy and immunology*. 2005; 137 (3): 201-210. doi: 10.1159/000086332
7. Kayode O.S., Prado N., Thursfield D.J., Till S.J., Siew L.Q.C. Lemon seed allergy: a case presentation. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2020; 16 ; 32. doi: 10.1186/

- s13223-020-00429-x
8. Прилуцкий А.С., Лыгина Ю.А. Аллергия к лимону: описание случая орального аллергического синдрома в сочетании с аллергическим средним отитом и лабиринтитом у больной с полисенсibilizацией и множественными проявлениями аллергии. Российский аллергологический журнал. 2019; 16 (2): 25-32.
 9. Helm R.M. Topic 5: Stability of Known Allergens (Digestive and Heat Stability). Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Food Derived from Biotechnology. Geneva; 2001: 22-25.
 10. Рыбникова Е.А., Пролдеус А.П., Федоскова Т.Г. Современные подходы к лабораторной диагностике аллергии – в помощь практикующему врачу. РМЖ. Медицинское обозрение. 2021; 5 (1): 43-49.
 11. Прилуцкий А.С., Лесниченко Д.А., Кузнецова Л.В., Прилуцкая И.А., Пузик А.А., Назаренко А.П. Оценка аналитической чувствительности, вариабельности и сравнительный анализ ИФА тест-систем для определения специфического IgE. Иммунология и аллергология: наука и практика. 2014; 1: 70-74.
 12. Heinzerling L., Mari A., Bergmann K.C., Bresciani M., Burbach G. et al. The skin prick test – European standards. Clinical and Translational Allergy. 2013; 3 (1): 3. doi: 10.1186/2045-7022-3-3
 13. Громов Д.А., Борисова А.В., Бахарев В.В. Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов. Техника и технология пищевых производств. 2021; 51 (2): 232-247. doi: 10.21603/2074-9414-2021-2-232-247
 14. Bruno L., Spadafora N.D., Iaria D., Chiappetta A., Bitonti M.B. Developmental stimuli and stress factors affect expression of ClGLP1, an emerging allergen-related gene in Citrus limon. Plant Physiology and Biochemistry. 2014; 79: 31-40. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.003
 15. Прилуцкий А.С., Лыгина Ю.А. Исследование наличия термолабильных аллергенов лимона или их эпитопов в различных частях плода. Архив клинической и экспериментальной медицины. 2020; 29 (3): 282-288.
- s13223-020-00429-x
8. Priluckij A.S., Lygina Yu.A. Allergiya k limonu: opisaniye sluchaya oral'nogo allergicheskogo sindroma v sochetanii s allergicheskim srednim otitom i labirintitom u bol'noj s polisensibilizaciej i mnozhestvennymi proyavleniyami allergii. Rossijskij allergologicheskij zhurnal. 2019; 16 (2): 25-32 (in Russian).
 9. Helm R.M. Topic 5: Stability of Known Allergens (Digestive and Heat Stability). Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Food Derived from Biotechnology. Geneva; 2001: 22-25.
 10. Rybnikova E.A., Prodeus A.P., Fedoskova T.G. Sovremennye podhody k laboratornoj diagnostike allergii – v pomoshch' praktikuyushchemu vrachu. RMZH. Medicinskoe obozrenie. 2021; 5 (1): 43-49 (in Russian). doi:10.32364/2587-6821-2021-5-1-43-49
 11. Priluckij A.S., Lesnichenko D.A., Kuznecova L.V., Priluckaya I.A., Puzik A.A., Nazarenko A.P. Ocenka analiticheskoy chuvstvitel'nosti, variabel'nosti i sravnitel'nyj analiz IFA test-sistem dlya opredeleniya specificheskogo IgE. Immunologiya i allergologiya: nauka i praktika. 2014; 1: 70-74 (in Russian).
 12. Heinzerling L., Mari A., Bergmann K. C., Bresciani M., Burbach G. et al. The skin prick test – European standards. Clinical and Translational Allergy. 2013; 3 (1): 3. doi:10.1186/2045-7022-3-3
 13. Gromov D.A., Borisova A.V., Baharev V.V. Pishchevye allergeny i sposoby polucheniya gipoallergennyh pishchevyh produktov. Tekhnika i tekhnologiya pishchevyh proizvodstv. 2021; 51 (2): 232-247 (in Russian).
 14. Bruno L., Spadafora N. D., Iaria D., Chiappetta A., Bitonti M. B. Developmental stimuli and stress factors affect expression of ClGLP1, an emerging allergen-related gene in Citrus limon. Plant Physiology and Biochemistry. 2014; 79: 31-40. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.003
 15. Priluckij A.S., Lygina Yu.A. Issledovanie nalichiya termolabil'nyh allergenov limona ili ih epitopov v razlichnyh chastyah ploda. Arhiv klinicheskoy i eksperimental'noj mediciny. 2020; 29 (3): 282-288 (in Russian).