

Определение спектра антител и сенсibilизации гранулоцитов к пищевым красителям у больных бронхиальной астмой

Н.Д. Титова¹, П.Д. Новиков²

¹ Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск

² Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск

Determination of the spectrum of antibodies and sensitization of granulocytes to food dyes in patients with bronchial asthma.

N.D. Titova¹, P.D. Novikov²

¹ Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk

² Vitebsk State Medical University, Vitebsk

Аннотация

Известны различные аллергические реакции на синтетические красители (тартразин, индигокармин и др.), используемые в пище и лекарствах. Однако диагностика этих реакций затруднена в связи с многообразием их механизмов и отсутствием достаточно достоверных методов их определения.

Целью работы было определение спектра антител и сенсibilизации гранулоцитов к пищевым красителям при atopической бронхиальной астме. Обследовано 48 больных atopической бронхиальной астмой. IgE, IgG, IgA – антитела к красителям E102, E110, E122, E124, E132 определяли методом иммуноферментного анализа, а также выявляли сенсibilизацию гранулоцитов в реакции выброса миелопероксидазы (РВМ) и реакции аллергенспецифического повреждения гранулоцитов (РАПЛ). IgE-антитела к тартразину выявлены у 16,6% больных, к кармуазину – у 37,5%, к понсо – у 8,3%, к индигокармину – у 16,6%, к оксиду титана – у 37,5% больных. IgG-антитела обнаружены у 6,2%, 20,8%, 18,7%, 6,2%, 29,1% больных соответственно. IgA-антитела имелись – у 4,1%, 22,9%, 20,8%, 4,1%, 22,9% больных соответственно. Сенсibilизация гранулоцитов в РВМ обнаружена на тартразин – у 10,4%, кармуазин – у 8,3%, понсо – у 8,3%, индигокармин – у 6,2%, оксид титана – у 12,5% больных астмой. В РАПЛ получены аналогичные результаты сенсibilизации гранулоцитов. У здоровых лиц (25) IgE-антитела к этим красителям не обнаружены, а сенсibilизация гранулоцитов имелась у одного человека на кармуазин и у 2-х – на понсо. У больных (23) стабильной стенокардией напряжения, получавших лекарства с красителями, в одном случае были IgE-антитела на оксид титана, и в 3-х – сенсibilизация гранулоцитов.

Выводы: синтетические красители – потенциальные аллергены при астме, диагностика аллергии к ним должна проводиться путем выявления IgE-антител и сенсibilизации гранулоцитов.

Summary

Various allergic reactions to synthetic dyes (tartrazine, indigo carmine, etc.) used in food and medicines are known. However, the diagnosis of these reactions is difficult due to the variety of mechanisms and the lack of sufficiently reliable methods for their determination.

The aim of the study was to determine the spectrum of antibodies and the sensitization of granulocytes to food dyes in atopical asthma. The study involved 48 patients with atopical bronchial asthma. IgE, IgG, IgA-antibodies to food dyes E102, E110, E122, E124, E132 were determined by enzyme immunoassay, and the sensitization of granulocytes were detected in the test of myeloperoxidase release (TMR) and the reaction of damaging leukocytes by the antigen (RDLA). IgE-antibodies were detected to tartrazine in 16.6% of patients, to karmuazine - in 37.5%, to ponceau - in 8.3%, to indigo carmine - in 16.6%, to titanium oxide - in 37.5% of patients. IgG-antibodies were detected in 6.2%, 20.8%, 18.7%, 6.2%, 29.1%, respectively. IgA-antibodies were in- 4.1 %, 22.9%, 20.8%, 4.1%, 22.9%, of patients respectively. Sensitization of granulocytes in the TMR found to tartrazine - in 10.4%, to karmuazine - in 8.3%, to ponceau - in 8.3%, to indigo carmine - in 6.2%, to titanium oxide - in 12.5% of patients with asthma. In RDLA the similar results of sensitization granulocytes were received. In healthy individuals (25) IgE-antibodies to these dyes were not detected, the sensitization of granulocytes had one person to karmuazine and 2 - to ponceau. The patients (23) with stable stenocardia treated with medication contained synthetic dyes, in one case the patient had IgE-antibodies to titanium oxide, and in 3 cases - sensitization of granulocytes.

Conclusions: the synthetic dyes - potential allergens in asthma, allergy diagnostics to them must be carried out through the identification of IgE-antibodies and sensitization of granulocytes.

Ключевые слова

Пищевые красители, IgE-, IgG-, IgA-антитела, гранулоциты, атопическая бронхиальная астма.

Синтетические красители широко используются в пище и лекарствах. Они позволяют придать изделиям товарный вид, но не полезные свойства. Большинство красителей водорастворимы, не имеют запаха и дают стойкую окраску пищевого продукта или лекарства, т.е. связываются с ними, что создает новые аллергенные комплексы. В зависимости от вида пищевого продукта концентрация красителя в нем может колебаться в пределах от 25 до 500 мг/кг или мг/л. Однако их аллергенность может проявляться в значительно более низких концентрациях [1, 2].

Одним из наиболее широко используемых красителей является тартразин [3, 4]. Пиразолоновый желтый, синтетический краситель тартразин (формула $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$) широко применяется как пищевой краситель (E-102), а также в оболочках таблеток и капсул лекарств. Этот желтый порошкообразный краситель представляет собой натриевую соль синтетического продукта, изготовленного из фенилгидразин-р-сульфоновой кислоты и диоксивинной кислоты. В комбинации с другими красителями (индигокармин – E132, блестящий синий – E133, понсо – E124 и др.) входит в состав сложных смесей красителей, обеспечивающих различные окраски пищевых продуктов и напитков от ярко-зеленого до темно-красного и коричневого. Часто встречается в различных продуктах (коврижки, пряники, пудинги, глазурь, хлебобулочные изделия, смеси для приготовления теста, окрашенные безалкогольные газированные и фруктовые напитки, карамель, мороженное и др.) [5]. Многие напитки содержат его до 3,4 мг на 250 мл. Предельно допустимой суточной дозой в США считается 150 мг, по данным ВОЗ – 4,5 мг/кг. Красители, будучи активными гаптенами, связываются с белками и гликопротеинами пищи, а также со структурами клеток и тканей организма и становятся полноценными антигенами, к которым могут синтезироваться антитела. Наличие антител класса IgE против тартразина было установлено в экспериментах на животных и у человека [6, 7, 8, 9, 10].

Разрешенные санитарно-гигиеническими нормативами нормы потребления красителей

Keywords

Food dyes, IgE-, IgG-, IgA-antibody, granulocytes, atopic bronchial asthma.

обычно превышаются, что усиливает их аллергенность. Описаны различные аллергические реакции на эти добавки в виде крапивниц и отеков Квинке, ринитов, бронхитов, бронхиальной астмы, желудочно-кишечных расстройств и диарей.

Связь с индукцией астмы наиболее четко выражена у больных астматической триадой (поллипоз слизистой оболочки носа, непереносимость аспирина, удушье), при которой тартразин служит одним из провоцирующих удушье агентов [11, 12, 13, 14].

Некоторые авторы не нашли корреляции между клинической непереносимостью аспирина и тартразина и IgE-антителами в сыворотке крови и считают маловероятным, что клинические симптомы опосредуются антителами класса IgE против красителей [15, 16].

По результатам мультицентрового исследования в Европе 156 известных аспирин-чувствительных пациентов с бронхиальной астмой были протестированы на тартразин. Только 4 (2,6%) из них реагировали на тартразин в дозе 25 мг снижением ОФВ1 более чем на 25% по данным двойного слепого перорального тестирования [17]. Однако другие исследователи [18] находили повышенную чувствительность к тартразину у 16 из 51 (31%) аспирин-чувствительных пациентов с бронхиальной астмой.

Для диагностики непереносимости пищевых добавок (ПД) используются клинические методы, провокационные тесты, кожные скарификационные, аппликационные, прик-тесты, определение специфических IgE-антител и другие методы *in vitro* [19, 20].

Для доказательства их этиологической значимости часто используют оральные провокационные тесты [21, 22]. Отрицательные результаты двойных слепых плацебо-контролируемых тестов, особенно у больных с их непереносимостью, доказанной другими методами, может объясняться использованием в этих тестах «чистых» добавок (в частности красителей), тогда как больной употребляет их в виде комплексов с пищевыми продуктами (как гаптен-носитель) [23]. Другими причинами «ложноотрицательности» провокационных тестов могут быть не-

адекватная кратность поступления тестируемой ПД (не соответствует приему пищи) или неадекватный период поступления (не на пике сенсibilизации). Поэтому двойные слепые плацебо-контролируемые тесты, несмотря на многие их достоинства, не всегда отражают реальное наличие побочной реакции на ПД [24, 25].

К наиболее информативным *in vitro* тестам, позволяющим выявлять аллергию, относится иммуноферментный анализ с определением IgE и IgG антител [7, 20] и определение сенсibilизации лейкоцитов [9].

Возможна диагностика аллергии на ПД по увеличению ими продукции сульфидолекотриена (sLT) лейкоцитами периферической крови. Наиболее часто такую реакцию вызывали тартразин и бензоат [26, 27, 28].

Материалы и методы

Для оценки клинического значения красителей как аллергенов нами обследовано 48 взрослых больных atopической бронхиальной астмой (АБА) легкой и средней степени тяжести в фазе ремиссии, у которых по данным обследования имелась аллергия на бытовые и эпидермальные аллергены. Непереносимость красителей по данным анамнеза отмечалась у 27% (13) больных. Группой сравнения были 25 здоровых лиц без аллергии и 23 больных стабильной стенокардией напряжения (СН), принимавшие лекарства, содержащие красители.

IgE, IgG и IgA антитела к красителям определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора моноклональных антител производства ООО "Полигност" г. Санкт-Петербург по опубликованному методу [7]. Оптимальные разведения исследуемых сывороток крови находили путем оценки кривых их титрования: для IgE-антител это был титр 1:4, для IgG-антител - 1: 100, для IgA-антител - 1: 25.

Результаты оценивали с помощью мультискана ADAP Anthos Labtec Instruments при длине волны 450/620 нм. соответственно с правилами иммуноферментного анализа. При замере на анализаторе оптическая плотность в отрицательной лунке не превышала 0,300 е.д. оптической плотности. Все пробы дублировали [34].

Для получения сопоставимых результатов различных серий опытов и исключения зависимости от активности компонентов иммуноферментной реакции, результаты выражали в условных единицах (EU, Elisa Units), рассчитанных по формуле:

$$EU = OD_{оп.} \cdot OD_{ср.ст.} \cdot 1000 / OD_{оп.ст.}$$

где EU - значение скорректированной активности иммуноферментной реакции; OD оп. - оптическая плотность в лунке с исследуемым образцом в данном опыте; OD оп.ст. - оптическая плотность в лунке с положительной контрольной сывороткой в данном опыте; OD ср.ст. - средняя оптическая плотность в лунках с положительной контрольной сывороткой в серии из независимых опытов.

По степени выраженности реакции сенсibilизация к аллергену считалась высокой при $EU > 1000$, средней - $EU = 700-999$, низкой $EU = 590-699$, что сопоставимо с классами уровней антител, определяемых методом RAST [7].

Для выявления IgE и IgG - зависимых реакций гранулоцитов на синтетические красители (кармуазин, сансет желтый, тартразин) использовали реакцию антигениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) и реакцию выброса миелопероксидазы гранулоцитами (РВМ).

Для постановки РАПЛ [19] 5-10 мл крови брали из вены в пробирку с гепарином (20 ед. на 1 мл крови) и отстаивали в узких пробирках до момента четкого отделения эритроцитов от плазмы. Плазму с лейкоцитами отсасывали, центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин. К осадку лейкоцитов добавляли 10 мл раствора, лизирующего эритроциты (0,84% раствор хлористого аммония при 37°C). Ресуспензировали и снова центрифугировали. Полученную лейкосуспензию отмывали два раза стерильным раствором Хенкса. Затем суспензию лейкоцитов разводили этим раствором до 2 млн/мл клеток. В микропробирки или лунки иммунологического планшета, а также контрольные ряды добавляли по 0,05 мл приготовленной лейкоцитарной взвеси и по 0,05 мл 0,01% раствора красителя, приготовленного на забуференном физиологическом растворе хлорида натрия и инкубировали при 37°C 30 мин. В контрольные пробы краситель не добавляли. Указанная концентрация красителей не повреждала несенсibilизированные лейкоциты. Все пробы дублировали. Центрифугировали при 1000 об/мин 5 минут. В лунки добавляли по 0,05 мл раствора трипановой синьки и подсчитывали процент окрашенных (поврежденных) гранулоцитов в лунках с красителем и в контрольных пробах. Реакция считалась положительной, если более 15% гранулоцитов по сравнению с контрольными пробами окрашивались трипановой синькой [17, 26].

Для постановки РВМ [29] также получали суспензию лейкоцитов крови аналогичным

способом. Затем в круглодонные лунки иммунологических планшет вносили 0,1 мл (100 мкл) аналогично разведенного 0,001% раствора красителя и добавляли равный объем лейкосуспензии. Данная концентрация красителей не вызвала выделения миелопероксидазы из неенсибилизованных лейкоцитов. Пробы дублировали. Параллельно ставили контрольные пробы лейкосуспензии каждого больного со стерильным забуференным физиологическим раствором (отрицательный контроль). Смесь инкубировали 45 мин при 37°C, затем центрифугировали в течение 10 минут при 1500 оборотов в минуту. Осторожно (чтобы не забрать клетки) отсасывали 50 мкл надосадочной жидкости из каждой лунки круглодонной планшеты и переносили в лунку плоскодонной планшеты для ИФА. Вносили проявляющий раствор во все лунки планшеты для ИФА: к надосадочной жидкости добавляли по 150 мкл хромоген-субстратной смеси (0,015% H_2O_2 и тетраметилбензидин). Проявляющий раствор готовился непосредственно перед внесением. Инкубация проводилась при комнатной температуре в течении 15-25 мин до появления выраженного окрашивания синего цвета. Остановка реакции осуществлялась добавлением 50 мкл 4% серной кислоты - цвет раствора изменялся на желтый. Оценку реакции проводили на фотометре при длине волны 450 нм. Результат считался положительным, если оптическая плотность опытной пробы превышала оптическую плотность пробы отрицательного контроля не менее чем в два раза и плотность опытной пробы была не меньше 0,600. При превышении оптической плотности опытной пробы по сравнению с пробой отрицательного контроля менее чем в 2 раза, результат считался отрицательным.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ MS Excel, Statsoft Statistica 7.

Результаты и обсуждение

IgE-антитела к *тартразину* (таблица 1) в значимом уровне (выше II класса ИФА) выявлялись у 16,6% больных, что согласуется с ранее полученными данными у детей с астмой – 18,8%. Однако при пищевой аллергии они выявлялись у 28,9% больных [9]. IgG-антитела к данному красителю встречались у 6,2% этих больных, что значительно реже, чем у детей (36%); IgA-антитела находили редко – 4,1% больных.

Можно предположить, что относительно редкая индукция IgG и, особенно IgA-антител, у больных на данный краситель, поступающий через кишечник, делает его потенциально опасным аллергеном даже в сравнении с другими красителями, рассматриваемыми ниже. Сенсibilизация лейкоцитов выявлялась достоверно ($p < 0,05$) реже, чем IgE-антитела (РВМ была положительной у 10,4% больных, РАПЛ – у 8,3%), хотя по частоте сопоставима с выявлением IgG и IgA-антител (таблица 1).

IgE-антитела к *кармуазину* (E122) обнаружены у 37,5% больных, что достоверно чаще, чем к E102 ($p < 0,05$). Возможно это один из наиболее аллергенных красителей. Существенно чаще, чем к нему, выявлялись IgG (в 20,8%) и IgA (в 22,9%) антитела. РВМ была положительна у 8,3% больных, РАПЛ – у 12,5%. Однако, хотя значимый уровень IgE-антител на E122 встречался чаще, чем на E102, иммунный ответ на него был более «нормализованным» у большей части больных за счет параллельного наличия IgG и IgA-антител. Остается неясным, как это могло отразиться на клинической значимости этих особенностей иммунного ответа.

IgE-антитела на *понсо* (E124) выявлены у 8,3% больных АБА, IgG – у 18,7%, а IgA – у 20,8%. На этот краситель у больных преобладал явно не IgE-зависимый ответ, что может указывать на его меньшую потенциальную аллергенность. Сенсibilизация лейкоцитов встречалась в сопоставимых величинах с другими красителями: РВМ – 8,3%, РАПЛ – 8,3%.

К *индигокармину* (E132) IgE-антитела были найдены у 16,6%, IgG – у 6,2%, IgA – у 4,1% больных, т.е. с такой же частотой, как и к тартразину, что позволяет предположить сходную аллергоопасность.

К оксиду титана (E171) IgE-антитела обнаружены у 37,5% (18) больных АБА, IgG – у 29,1%, а IgA – у 22,9%. Такая высокая встречаемость антител указывает на его потенциальную аллергенность большую, чем у тартразина, понсо и индигокармина и сопоставимую с кармуaziном. Этот, самый распространенный краситель белых капсул и таблетизированных лекарств, а также бытовых, обиходных, строительных и косметических средств еще недостаточно изучен как потенциальный аллерген. Сенсibilизация лейкоцитов к нему встречалась: в РВМ – 12,5%, РАПЛ – 10,4% (см. таблицу 1).

Была предпринята попытка провести провокационные пероральные пробы с тартрази-

Таблица 1. Спектр антител и клеточная сенсibilизация на красители у пациентов с АБА и в группах сравнения (процент больных/количество)

Красители	Антитела, РВМ, РАПЛ	Больные АБА (n=48)	Контрольные группы	
			Здоровые (n=25)	Больные ССН (n=23)
Тартразин, Е-102	IgE-антитела	16,6% (8)*	0	0
	IgG-антитела	6,2% (3)	0	0
	IgA-антитела	4,1% (2)	0	0
	РВМ	10,4% (5)*	0	0
	РАПЛ	8,3% (4)*	0	0
Кармуазин, Е-122	IgE-антитела	#37,5% (18)*	0	(4,3%) 1
	IgG-антитела	20,8% (10)*	4% (1)	0
	IgA-антитела	22,9% (11)*	0	0
	РВМ	8,3% (4)*	4% (1)	-
	РАПЛ	12,5% (6)*	4% (1)	-
Понсо, Е-124	IgE-антитела	8,3% (4)*	0	0
	IgG-антитела	18,7% (9)*	4% (1)	0
	IgA-антитела	20,8% (10)*	0	0
	РВМ	8,3% (4)	8% (2)	-
	РАПЛ	8,3% (4)	4% (1)	-
Индигокармин, Е-132	IgE-антитела	#16,6% (8)*	0	0
	IgG-антитела	6,2% (3)*	0	0
	IgA-антитела	4,1% (2)	0	0
	РВМ	6,2% (3)	0	0
	РАПЛ	6,2% (3)	0	-
Оксид титана, Е-171	IgE-антитела	#37,5% (18)*	0	(4,3%) 1
	IgG-антитела	29,1% (14)*	0	0
	IgA-антитела	22,9% (11)*	0	(13%) 3
	РВМ	12,5% (6)*	0	-
	РАПЛ	10,4% (5)*	0	-

Примечания:

АБА – атопическая бронхиальная астма; ССН – стабильная стенокардия напряжения

1. * – достоверные различия между группой астмы и контрольной группой здоровых лиц $p < 0,05$;

2. # – достоверные различия между IgE-антителами и РВМ и РАПЛ.

ном у больных с наличием IgE-антител: у 3-х из 12 больных отмечено снижение показателей ФВД. Однако их выполнение технически сложное и дает малозначимый результат, так как уже на основании лабораторных данных можно доказать необходимость исключения красителей из пищи и лекарств.

В контрольной группе здоровых лиц (таблица 1) IgE- и IgA-антитела к красителям отсутствовали, а IgG выявлялись у одного из 25 (4%) человек на кармуазин и у одного – на понсо. РВМ как и РАПЛ в этой группе были положительны у одного на кармуазин, а также у 2-х на понсо (РАПЛ – у одного).

В качестве дополнительной группы сравнения были обследованы 23 пациента кардиологи-

ческого отделения Витебской областной клинической больницы с ишемической болезнью сердца и стабильной стенокардией напряжения (ССН), которые в анамнезе и в стационаре получали лекарственные препараты, содержащие в оболочке красители (моночинкве ретард – E104, E171, E124; эгилек – E171; вазилип – E171; прудуктал – E171, E172; карведилол – E104 и др.). Наиболее часто в этих препаратах содержался диоксид титана (E171).

IgE-антитела были обнаружены у одного больного к диоксиду титана и у другого – к кармуазину (8,6%), а еще у одного – результат был сомнительный (к кармуазину). У двух больных с наличием IgE-антител имелась сопутствующая патология – бронхиальная астма смешанного

гене́за средней степени тяжести, ДНО; а у одного – с сомнительным результатом – псориаз в анамнезе. У одного больного отмечен «сомнительный» уровень IgG-антител к кармуазину. Особенностью этой группы больных было частое выявление «сомнительного» (на границе I-II класса ИФА) уровня IgA-антител к диоксиду титана – у 12 из 23 (52%) больных, тогда как к понсо, сансету и к кармуазину такие результаты встретились только у 4-х (17,4%) больных.

Значимый уровень (II-III класс ИФА) IgA-антител наблюдался у 3-х (13%) больных и тоже к диоксиду титана. Этот краситель входит в состав практически всех белых таблеток, в том числе используемых кардиологическими больными, тогда как остальные красители существенно реже. Можно предположить, что низкие, «сомнительные» уровни IgA-антител обусловлены постоянным приемом таблеток, содержащих диоксид титана, а само наличие этих антител скорее отражает состояние толерантности к этому красителю у больных без предрасположенности к аллергии, тогда как у больных с астмой имелись IgE-антитела. Следовательно, хотя IgE-антитела к красителям у больных кардиологического отделения встречались относительно редко (8,6%), но это указывает на потенциальную угрозу развития у них аллергических реакций, которые могут иметь тяжелые кардиососудистые последствия – инфаркт миокарда. Обращает на себя внимание, что у здоровых лиц (таблица 1) в 2-х случаях к красителям обнаружили только IgG-антитела.

С другой стороны, нередкое присутствие IgA-антител к красителям указывает на наличие иммунного ответа на красители с непредсказуемыми последствиями. Поэтому, данное небольшое исследование больных с ИБС со всей очевидностью свидетельствует о том, насколько потенциально опасными могут быть синтетические красители, используемые в лекарствах без особой необходимости.

Таким образом, у больных АБА довольно часто встречаются IgE-антитела к красителям пищи и лекарств. Последнее обстоятельство делает их особо опасными при назначении больным аллергией лекарств, содержащих красители. Так как номенклатура таких красителей включает более сотни наименований, то вероятность их астмагенного действия у больных достаточно велика, что следует учитывать при элиминации пищевых, лекарственных, бытовых и других потенциальных ал-

лергенов. Частота выявления и изотипический спектр антител на разные красители различаются, что может отражать степень их аллергоопасности.

У взрослых больных астмой в отличие от детей [9] между частотой выявления IgE-антител к некоторым красителям и положительными клеточными тестами РВМ и РАПЛ имелись существенные различия. К кармуазину, индигокармину и оксиду титана IgE-антитела выявлялись чаще ($p < 0,05$), чем наблюдались положительные РВМ и РАПЛ. Однако к понсо отличий не было, а к тартразину между показателями РВМ и IgE-антителами они были недостоверными (5 и 8 случаев). Подобных различий между показателями IgE-антител и РВМ не наблюдалось при обследовании детей с бронхиальной астмой и атопическим дерматитом [9] за счет того, что обнаружено больше положительных РВМ при АД.

При сопоставлении результатов лабораторного исследования с анамнестическими и клиническими данными о непереносимости пищевых добавок и красителей оказалось, что с РВМ имела более высокая корреляция ($r = 0,832$, $p < 0,05$), чем с IgE-антителами ($r = 0,676$, $p < 0,05$).

Следовательно, наличие IgE-антител к красителям в сыворотке крови больных АБА по частоте превышает клинические признаки их аллергической непереносимости и указывает скорее на вероятность аллергии, тогда как РВМ более соответствует клиническим признакам непереносимости красителей.

Устанавливать «IgE-зависимость» атопических заболеваний, только по наличию IgE-антител в сыворотке крови, как это нередко встречается в литературе, неверно по двум причинам. Во-первых, циркулирующие IgE не способны вызвать аллергические реакции даже связавшись с аллергеном, так как такой комплекс не активизирует комплемент и может связаться с низкоаффинными FcεII типа рецепторами различных лейкоцитов и индуцировать скорее толерантность, чем запуск выброса из них медиаторов. Во-вторых, при этом не определяются наиболее «активные» IgE-антитела, связавшиеся с FcεRI рецепторами базофилов, эозинофилов и даже IgE-связывающими рецепторами активированных нейтрофилов «аллергиков», которые при взаимодействии с аллергенами вызывают дегрануляцию этих гранулоцитов и развитие аллергической реакции.

В этой связи, выявление на аллерген положительных тестов РАПЛ и РВМ в большей степени

свидетельствует о наличии клинически значимой аллергической реакции, чем IgE-антитела сыворотки крови. Тем более, что эти тесты могут выявлять не только IgE, но и IgG-антитела, связанные с лейкоцитами. Наши результаты показывают, что при отрицательных РАПЛ и РВМ обычно нет клинических признаков аллергической реакции.

Поэтому РАПЛ и РВМ, определяющие, по видимому, разные степени гиперчувствительности, в совокупности могут служить тестами 1-го клинического уровня для скрининга аллергии. IgE-антитела следует определять на 2-м этапе для уточнения диагноза или нечеткости результатов 1-го этапа тестирования.

Следует отметить (таблица 2), что выявлялась умеренная положительная корреляционная взаимосвязь ($r=0,4-0,6$) между IgE-антителами к тартразину и IgE-антителами индигокармину, понсо, кармуазину, оксиду титана ($r=0,634, r=0,673, r=0,403, r=0,512$ соответственно $p<0,05$). Такой корреляции IgE-антител не было с IgG и IgA-антителами.

Между содержанием IgG-антител к исследуемым добавкам также определялась положительная корреляционная взаимосвязь от слабой – между IgG-антителами к тартразину и индигокармину, между IgG-антителами к индигокармину и понсо ($r=0,07, r=0,323$ соответственно $p<0,05$) до умеренной – между IgG-антителами к оксиду титана и индигокармину, индигокармином и кармуазинном ($r=0,506, r=0,417$ соответственно $p<0,05$). Подобные взаимосвязи были также характерны и для IgA-антител: IgA-анти-

тела тартразин-индигокармин $r=0,423 p<0,05$, IgA-антитела тартразин-понсо – $r=0,597 p<0,05$, IgA-антитела тартразин – кармуазин – $r=0,263 p<0,05$). Частое присутствие в сывороке крови IgE-, IgG- и IgA-антител сразу к нескольким пищевым красителям возможно объясняется широким использованием в промышленности смеси красителей и, кроме того, возможностью перекрестных реакций между азокрасителями из-за сходной химической структуры.

Между наличием IgE-антител и сенсibilизацией гранулоцитов (в РВМ и в РАПЛ) имелась положительная корреляционная взаимосвязь от умеренной ($r=0,42-0,53, p<0,05$) до высокой степени выраженности ($r=0,8, p<0,05$) ко всем исследованным пищевым красителям. При сопоставлении результатов с анамнезом оказалось, что с РВМ он сильнее ($r=0,832, p<0,01$) коррелировал, чем с IgE-антителами ($r=0,676, p<0,05$). Выявление сенсibilизации гранулоцитов с помощью РВМ и РАПЛ показало, что данные методы хорошо коррелировали между собой ($r=0,5-0,8$) ко всем исследованным пищевым красителям, что является дополнительным доказательством их диагностической эффективности. Эти данные получены впервые и имеют приоритетное значение. Применение РВМ и РАПЛ – простых и дешевых методов, взаимно дополняющих друг друга, может составить альтернативу определению IgE-антител к аллергенам-красителям в сыворотке крови для клинической практики, а совокупность трех указанных методов является оптимальной для решения научных задач аллергологии.

Таблица 2. Корреляционные взаимосвязи между наличием IgE, IgG, IgA антител и сенсibilизацией гранулоцитов (РВМ) на красители (при $p<0,05$)

Spearman Rank Order Correlations	Тартразин	Индигокармин	Понсо	Кармуазин	Оксид титана
IgE-IgG антитела	$r=-0,123$	$r=0,320$	$r=0,412$	$r=0,252$	$r=0,183$
IgE-IgA антитела	$r=0,202$	$r=0,370$	$r=0,290$	$r=0,422$	$r=0,319$
IgG-IgA антитела	$r=0,329$	$r=0,221$	$r=-0,009$	$r=0,541$	$r=0,722$
РВМ-IgE антитела	$r=0,611$	$r=0,413$	$r=0,791$	$r=0,408$	$r=0,307$
РВМ-IgG антитела	$r=0,424$	$r=0,512$	$r=0,352$	$r=0,335$	$r=0,379$
РВМ-IgA антитела	$r=0,202$	$r=0,150$	$r=0,023$	$r=0,171$	$r=0,145$
РАПЛ-IgE антитела	$r=0,510$	$r=0,310$	$r=0,812$	$r=0,421$	$r=0,302$
РАПЛ-IgG антитела	$r=0,497$	$r=0,517$	$r=0,428$	$r=0,524$	$r=0,228$
РАПЛ-IgA антитела	$r=0,198$	$r=0,415$	$r=0,148$	$r=0,172$	$r=0,179$
РАПЛ-РВМ	$r=0,712$	$r=0,795$	$r=0,893$	$r=0,682$	$r=0,574$

Заключение

Красители пищи могут быть важными астматическими аллергенами, а могут индуцировать и неспецифические реакции. Диагностика *in vitro* путем комплексного определения IgE-антител и сенсibilизации лейкоцитов позволяет наиболее точно оценить их клиническое значение при астме. Тесты выявления сенсibilизации лейкоцитов (РВМ и РАПЛ) не уступают по клинической значимости определению IgE-антител и положительно коррелируют с ними. С анамнезом больше коррелировала РВМ, чем IgE-антитела.

С учетом этих и ранее полученных нами данных об иммуномодулирующих свойствах синтетических красителей [1], становится ясным, что их «безвредность» для человека, а тем более больного – миф, и необходим запрет на их применение в лекарствах и пищевых продуктах.

Литература

1. Титова Н.Д. Иммуномодулирующие эффекты пищевых красителей: стимуляция лимфоцитов и индукция секреции цитокинов. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2011; №2: 81-90.
2. Титова Н.Д. Аллергические и неаллергические реакции на добавки в пище и лекарствах. Аллергология и иммунология 2010; №3, Т. 11: 250-259.
3. Булдаков А.С. Пищевые добавки. - М.: ДеЛи-принт, 2003: 436 с.
4. Гигиенические требования к качеству и безопасности пищевых добавок и их применению: Санитарные правила и нормы 13-10 РБ 2002. Мн.: Минздрав РБ, 2003: 16 с.
5. Болотов В.М., Нечаев А.П., Сарафанова Л.А. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение. - С.-Пб.: ГИОРД, 2008: 240 с.
6. Cantani A. Pediatric Allergy, Asthma and Immunology. Springer 2008: 706-708.
7. Новиков П.Д., Новикова Н.Д. Выявление IgE- и IgG-антител к пищевому красителю тартразину в сыворотке крови больных. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2006; №1: 36-41.
8. Титова Н.Д. Антитела к синтетическим пищевым красителям у детей с аллергическими заболеваниями. Медицинские новости 2010; №5-6: 89-92.
9. Титова Н.Д. Спектр антител и сенсibilизация гранулоцитов к пищевым красителям у детей с аллергическими заболеваниями. Охрана материнства и детства 2010; №2 (16): 11-15.
10. Moneret-Vautrin D.A. et al. Induction of reaginic hypersensitivity to tartrazine in the rabbit immunization by ingestion of the covalent conjugate tartrazine-human serum albumin. Ann. Immunol. (Paris) 1979, May-Jun; 130C(3): 419-430.
11. Perkin E. Food allergies and adverse reactions. - Jones & Bartlett Publishers, 1990: 288 p.
12. Arden K.D., Ram F.S. Tartrazine exclusion for allergic asthma. Cochrane Database Syst. Rev. 2001(4): CD000460.
13. Stevenson D. Approach to the patient with a history of adverse reactions to aspirin or NSAIDs: Diagnosis and treatment. Allergy. Asthma. Proc. 2000; 21: 25-31.
14. Thuvander A. Hypersensitivity to azo coloring agents. Tartrazine in food may cause rash and asthma Lakartidningen. Allergy 2004; Feb. - 59(2): 192-197.
15. Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A. Food allergy: adverse reactions to foods and food additives. Blackwell Pub. 2008: 310-370.
16. Nettis E. et al. Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral challenge. Clin. Exp. Allergy 2003; 33(12): 1725-1729.
17. Stevenson D. Approach to the patient with a history of adverse reactions to aspirin or NSAIDs: Diagnosis and treatment. Allergy. Asthma. Proc. 2000; 21: 25-31.
18. Stevenson D.D. et al. Adverse reactions to tartrazine. J. Allergy Clin. Immunol. 1986; 78(1 Pt 2): 182-191.
19. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. М.: Медицина, 1996: 246 с.
20. Пампура А.Н., Варламов Е.Е. Прогнозирование течения пищевой аллергии у детей. Росс. аллергол. журнал 2009; №4: 53-57.
21. Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A. Food allergy: adverse reactions to foods and food additives. Blackwell Pub. 2008: 310-370.
22. Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Новиков П.Д. Диагностика лекарственной аллергии. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2001; №1: 51-64.
23. Johansson S.G.O. et al. Anaphylaxis to Patent Blue V. II. A unique IgE-mediated reaction. Allergy 2009; 65: 124-129.
24. Титова Н.Д. Пищевые добавки как алиментарные аллергены. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2008; №2: 41-46.
25. Weber R.W. Food additives and allergy. Ann. Allergy 1993, Mar; 70(3): 183-190.
26. Де Век А. Современные перспективы диагностики аллергии *in vitro*: сб. Новости науки и техники. Бронхиальная астма и аллергические заболевания. Серия медицина. М., 1997: XXV.
27. Di Lorenzo G., Pacor M.L., Vignola A.M. Urinary metabolites of histamine and leukotrienes before and after placebo-controlled challenge with ASA and food additives in chronic urticaria patients. Allergy 2002; 57(12): 1180-1186.
28. Worm M. et al. Increased leukotriene production by food additives in patients with atopic dermatitis and proven food intolerance. Clin. Exp. Allergy 2001; 31(2): 265-273.
29. Новиков П.Д., Новикова Н.Д. Диагностика аллергии в реакции выброса миелопероксидазы под влиянием аллергена. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2002; №1: 63-68.

Сведения об авторах:

Титова Надежда Дмитриевна, докторант кафедры аллергологии и профпатологии БелМАПО, 220714, г. Минск, ул. Бровки, 3, E-mail: nadytitova@mail.ru

Поступила 21.05.2013 г.