

9. Радзинский В. Е., Петров Ю. А., Полина М. Л. Хронический эндометрит в современной перспективе // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93. № 1. – С. 178–181.

10. Сидельникова В. М. Привычная потеря беременности. – М.: Триада-Х, 2000. – 304 с.

11. Цаллагова Л. В., Кабулова И. В., Мирзаева Л. М. Использование электротерапии в комплексном лечении трубно-перитонеального бесплодия // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: Матер. трудов XX, юбилейн. междунар. конгресса / Под ред. Л. В. Адамян. – М., 2007. – С. 311–313.

12. Шуршалина А. В., Коган Е. А., Ежова Л. С., Сухих Г. Т. Показатели рецептивности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом // Материалы Международного конгресса «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии». – Москва, 2006. – С. 221–222.

13. Шуршалина А. В. Роль хронического эндометрита в развитии патологии репродуктивной функции // Российский медицинский журнал. – М., 2007. – № 4. – С. 25–27.

14. Ness R. B. A cluster analysis of bacterial vaginosis-associated microflora and-pelvic inflammatory disease / R. B. Ness, K. E. Kip, S. L. Hillier // Am. j. epidemiol. – 2005. – Vol. 162. № 5. – P. 585–590.

15. Sanders B. Uterine factors and infertility // J. reprod. med. – 2006. – Vol. 51. № 3. – P. 169–176.

16. Sharkey A. M. The endometrium as a cause of implantation failure. Best practice & / A. M. Sharkey, S. K. Smith // Research. clinical. obstetrics. gynecology. – 2003. – Vol. 17. № 2. – P. 289–307.

17. Shurshalina A. V. Reviewing the problem of chronic endometritis among infertile women // Gynecological endocrinology. – 2006. – Vol. 22. Suppl № 1. – P. 296.

18. Silantjeva E. S., Shurshalina A. V. Preparing for women with chronic endometritis to I VF // Abstracts book of 22nd annual meeting of ESHRE, human reproduction. – 2006. – Vol 21. Suppl 1. – P. 193.

Поступила 04.07.2014

С. В. ЧАУСОВА¹, К. Г. ГУРЕВИЧ², Г. П. БОНДАРЕВА³,
Е. А. УСАНОВА¹, Е. Э. АРУТЮНОВА¹, И. Ю. МАЛЫШЕВ⁴

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА СТИМУЛИРОВАННОЙ СУЛЬФАТОМ БАРИЯ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ ПИЩЕВОГО КРАСИТЕЛЯ ТАРТРАЗИНА

¹Кафедра общей патологии медико-биологического факультета
ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н. И. Пирогова» МЗ РФ,

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1;
тел. 8 (495) 434-86-37. E-mail: svetlana_chau@mail.ru;

²кафедра ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития»
ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова» МЗ РФ,

Россия, 127473, г. Москва, ул. Десятская, 20/1. E-mail: kgurevich@mail.ru;

³отделение бронхиальной астмы ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, корп. 2;
тел. (499) 618-5-26. E-mail: bondarev-galina@yandex.ru;

⁴кафедра патологической физиологии лечебного факультета
ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова» МЗ РФ,
Россия, 105275, г. Москва, ул. Бориса Жигуленкова, 23/1. E-mail: Iymalyshev1@mail.ru

Исследовали интенсивность стимулированной сульфатом бария люминолзависимой хемилюминесценции (СЛХЛ) крови после предварительной инкубации проб крови с пищевым красителем тартразином, используемым в различных концентрациях, у здоровых доноров и больных с астматической триадой в сочетании с непереносимостью тартразина. Выявлены достоверные различия показателей СЛХЛ крови у здоровых доноров и больных с непереносимостью данного красителя, что открывает возможность применения хемилюминесцентного метода для диагностики повышенной чувствительности к тартразину.

Ключевые слова: тартразин, непереносимость тартразина, непереносимость нестероидных противовоспалительных препаратов, хемилюминесценция.

**S. V. CHAUSOVA¹, K. G. GUREVICH², G. P. BONDAREVA³,
E. A. USANOVA¹, E. E. ARUTYUNOVA¹, I. Yu. MALYSHEV⁴**

THE POSSIBILITY OF USING BARIUM SULFATE STIMULATED LUMINOL-DEPENDENT
CHEMILUMINESCENCE METHOD FOR DIAGNOSTICS OF FOOD DYE TARTRAZINE INTOLERANCE

¹*Chair of the general pathology of medical and biologic faculty
Russian national research medical university,*

117997, Moscow, str. Ostrovityanova, 1; tel. 8 (495) 434-86-37. E-mail: svetlana_chau@mail.ru;

²*chair UNESCO «Healthy way of life – pledge successful razvumu»*

Moscow state mediko-stomatologic university of A. I. Evdokimova,

Russia, 127473, Moscow, street Delegastkaja 20/1. E-mail: kgurevich@mail.ru;

³*branch «Bronchial asthma» institute of Immunology Moscow,*

Russia, 115478, Moscow, Kashirskoe shosse 24/2;

tel. (499) 618-25-26. E-mail: bondarev-galina@yandex.ru;

⁴*chair of pathological physiology of medical faculty Moscow state medical and dental university,
105275, Moscow, str. Borisa Zhigulenkova, 23/1. E-mail: lymalyshev1@mail.ru*

We investigated the intensity of barium sulfate stimulated luminol-dependent chemiluminescence (SLCL) blood after pre-incubation of blood samples with food dye tartrazine used at different concentrations in healthy donors and patients with asthmatic triad combined with tartrazine intolerance. Significant differences indicators SLCL blood from healthy donors and patients with intolerance to this dye allows us to use chemiluminescence method for the diagnosis of tartrazine intolerance.

Key words: tartrazine, tartrazine intolerance, non-steroidal anti-inflammatory drugs intolerance, chemiluminescence.

Пищевой краситель желтого цвета тартразин (E102) широко используется в России в пищевой и фармакологической промышленности. Однако при употреблении пищевых продуктов, напитков, лекарственных препаратов, окрашенных тартразином, нередко возникают побочные эффекты, такие как бронхоспазм, крапивница, отек Квинке, ринит, дерматит, мигрень, нарушение зрения и другие негативные реакции. В одних случаях, являясь гаптеном, тартразин образует комплексы с белком, например с сывороточным альбумином, и становится полноценным антигеном, на который в организме вырабатываются антитела. В этом случае развиваются истинные аллергические реакции на тартразин. В других случаях тартразин может выступать в качестве псевдоаллергена и индуцировать развитие псевдоаллергических реакций как в результате прямого действия красителя на чувствительные клетки-мишени аллергии с последующей неспецифической либерацией медиаторов, так и в результате нарушения метаболизма арахидоновой кислоты за счет угнетения циклооксигеназы и сдвига баланса в сторону преимущественного образования лейкотриенов, которые оказывают выраженное биологическое влияние на различные ткани и системы [8]. Не исключено, что у одного пациента могут развиваться реакции на пищевой краситель, обусловленные участием как специфических иммунных реакций, так и псевдоаллергических.

В литературе показано, что наиболее часто побочные реакции на тартразин возникают у людей с повышенной чувствительностью к нестероидным противовоспалительным препаратам (НПВП) [5].

Для диагностики повышенной чувствительности к пищевым красителям, в том числе к тартразину, используют кожные скарификационные тесты, прик-тесты, определение IgE-антител методом иммуноферментного анализа, аллергенспецифический тест по реакции выброса миелопероксидазы гранулоцитами и другие методы [4, 6, 15]. Однако кожные prick-тесты и аппликационные тесты к пищевым добавкам, в том числе тартразину, редко оказываются положительными и не совпадают с данными анамнеза и перорального тестирования [7, 10, 14]. В клинической практике диагноз повышенной чувствительности к тартразину основывается главным образом на рискованных провокационных тестах. Так, пероральный провокационный тест с тартразином до сих пор остается стандартом в диагностике гиперчувствительности к данному красителю [14, 11].

Основными методами иммунодиагностики гиперчувствительности к тартразину служат тесты выявления в крови свободных IgE- и реже IgG-антител и аллергенспецифический тест по реакции выброса миелопероксидазы гранулоцитами [4, 6]. Однако вышеупомянутые лабораторные методики позволяют диагностировать наличие истинной аллергической реакции на тартразин и не

позволяют диагностировать непереносимость тартразина при псевдоаллергии.

С нашей точки зрения, новые возможности для диагностики непереносимости пищевых красителей, в частности тартразина, открывает применение метода стимулированной сульфатом бария люминолзависимой хемилюминесценции крови. Данное предположение основано на том, что ранее нами было установлено дозозависимое угнетение стимулированной сульфатом бария люминолзависимой хемилюминесценции (СЛХЛ) периферической крови под влиянием НПВП у больных с повышенной чувствительностью к данным препаратам [9]. По результатам исследований был разработан безопасный и экономичный тест *in vitro* для диагностики непереносимости НПВП, являющихся псевдоаллергенами [12].

Вместе с тем остается неизвестной возможность использования хемилюминесцентного теста для выявления повышенной чувствительности к тартразину как псевдоаллергену.

Цель исследования – определить общие закономерности изменения СЛХЛ крови под влиянием тартразина у здоровых доноров и больных с непереносимостью НПВП в сочетании и без такового с непереносимостью тартразина.

Материалы и методы

Объектом исследования были 20 человек с астматической триадой в возрасте от 19 до 60 лет. У 9 пациентов повышенная чувствительность к НПВП сочеталась с непереносимостью тартразина (обследованная группа 1). Повышенная чувствительность к тартразину подтверждалась данными анамнеза и проявлялась клинически в виде бронхоспазма/ринита и/или крапивницы/отека Квинке. Группа больных, толерантных к тартразину, но имеющих гиперчувствительность к НПВП, состояла из 11 человек (обследованная группа 2). В крови всех обследованных пациентов обеих групп IgE к тартразину не были выявлены.

Показания к включению пациентов в исследование: приступы экспираторного диспноэ, ринит, крапивница, отек Квинке при приеме НПВП и употреблении продуктовых изделий, напитков, окрашенных тартразином в желтый цвет. Противопоказания к включению пациентов в исследование: проявления острой или обострение хронической инфекции, прием антигистаминных препаратов, системных глюкокортикостероидов, НПВП, а также окрашенных тартразином продуктовых изделий, напитков, лекарственных препаратов за 2 недели и менее до исследования.

Контрольная группа здоровых доноров, не контактировавших с НПВП, а также с пищевыми изделиями и лекарственными формами, содержащими тартразин в ближайшие 2 недели до эксперимента состояла из 14 человек. У здоровых

доноров отсутствовала непереносимость НПВП и тартразина. Все включенные в работу доноры дали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Клиническое исследование одобрено межвузовским комитетом по этике, протокол от 17.05.2012 г. № 05-12.

Для исследования использовалась гепаринизированная венозная кровь (концентрация гепарина – 50 ЕД/мл). Непосредственно перед проведением исследования во взятых образцах цельной крови определяли количество и жизнеспособность лейкоцитов. Из образцов крови отбирали объемы, содержащие 1×10^6 лейкоцитов, и доводили их до 0,69 мл средой Хенкса. Затем к полученным образцам добавляли 0,01 мл растворенного в физиологическом растворе тартразина в различных концентрациях. В контрольные пробы вместо красителя добавляли физиологический раствор в том же объеме. Каждую пробу инкубировали в течение 45 минут при 37° С при постоянном перемешивании. Жизнеспособность ПМЛ, определяемая окрашиванием трипановым синим, за время инкубации существенно не изменялась. После инкубации проводили измерение интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) проб на 36-кюветном биохемилюминесцентном анализаторе «БЛМ 3606-01» (г. Красноярск), сигнал от которого поступал на персональный компьютер и анализировался с помощью программы «BLM-Obrab». В качестве активатора свечения использовали люминол (отражает суммарную секрецию активных форм кислорода (АФК) ПМЛ) [1]. В кювету хемилюминометра вносили 0,7 мл пробы после инкубации и 0,15 мл активатора (2 мМ). Далее измеряли уровень спонтанной ХЛ. После регистрации спонтанной ХЛ добавляли 0,15 мл стимулятора свечения – сульфата бария (2 мг/мл) и регистрировали уровень стимулированной ХЛ. Измерение ХЛ крови проводили в режиме постоянного перемешивания при температуре 37° С.

С помощью компьютерной программы «BLM-Obrab» определяли площадь под кривой ХЛ (S_{хл}), отражающую светосумму ХЛ. При оценке влияния тартразина на ХЛ крови определяли относительную светосумму свечения как отношение S_{хл} опытной пробы (с тартразином) к S_{хл} контрольной пробы.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на компьютере с применением программ «STATISTICA» версия 7.0 и «Excel 2007». Все результаты в данной работе представляли в виде $M \pm m$ (M – среднее арифметическое для анализируемой группы показателей, m – ошибка среднего). Статистическую достоверность отличия измеряемых величин определяли, используя критерий Манна-Уитни. Различия считали достоверно значимыми при уровне $p < 0,05$. Для оценки корре-

ляционной связи использовался метод Спирмена с определением коэффициента корреляции (r .)

Результаты и обсуждение

Результаты исследования влияния тартразина на СЛХЛ крови доноров контрольной группы и пациентов с астматической триадой 1-й и 2-й групп представлены на рисунке.

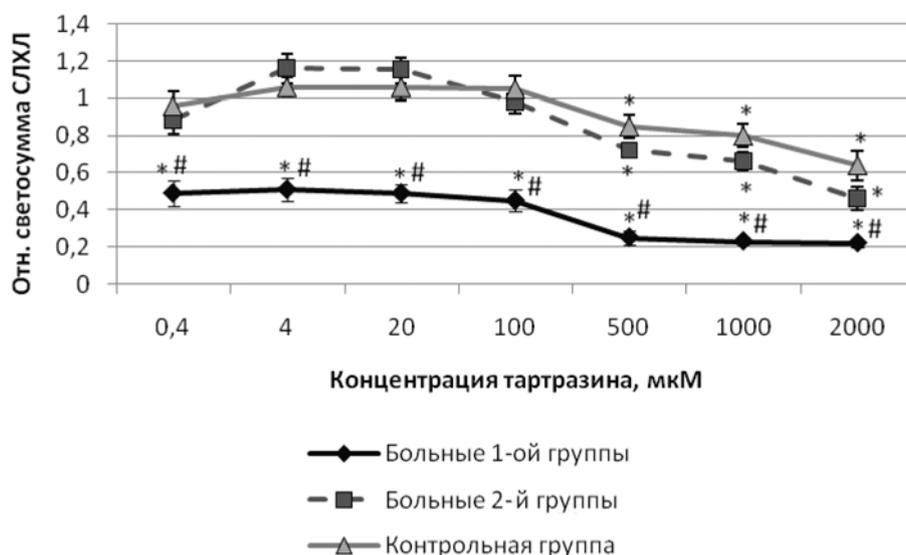
Как видно из рисунка, тартразин оказывает модифицирующее влияние на СЛХЛ крови доноров контрольной группы и больных 1-й и 2-й групп. В контрольной группе доноров СЛХЛ крови существенно не изменяется на малых и средних концентрациях препарата (в диапазоне от 0,4 до 100 мкМ). На концентрациях, превышающих 100 мкМ, СЛХЛ крови дозозависимо снижается. В частности, на самой высокой концентрации тартразина (2000 мкМ) относительная светосумма СЛХЛ крови доноров контрольной группы составила 0,64 отн. ед.

При воздействии тартразина на кровь больных 2-й группы характер изменения интенсивности СЛХЛ был аналогичен таковому доноров контрольной группы. У больных 1-й группы на всех концентрациях препарата наблюдалось выраженное ингибирование СЛХЛ крови, в котором можно было выделить две фазы: в первую фазу ингибирования (в диапазоне концентраций от 0,4 до 100 мкМ) угнетение СЛХЛ составляло примерно 50% относительно контрольной пробы, во вторую фазу (от 500 до 2000 мкМ) – около 80%. Таким образом, выявляются достоверные различия в суммарной секреции АФК ПМЛ крови под влиянием тартразина в контрольной группе и у пациентов 1-й группы на всех концентрациях красителя.

Полученные результаты показывают, что тартразин модифицирует СЛХЛ крови доноров контрольной группы и пациентов 1-й и 2-й групп. В контрольной группе при воздействии на кровь тартразина выявлено две фазы в изменении интенсивности СЛХЛ: в первой фазе отсутствовали выраженные изменения СЛХЛ (в диапазоне от 0,4 до 100 мкМ); вторая фаза характеризовалась дозозависимым угнетением СЛХЛ. У пациентов 1-й группы наблюдалось выраженное подавление интенсивности СЛХЛ уже начиная с минимальной концентрации препарата. При всех используемых концентрациях красителя СЛХЛ крови пациентов 1-й группы была достоверно ниже, чем у доноров контрольной группы. Эти результаты подтверждают ранее полученную нами закономерность при непереносимости НПВП, когда было обнаружено ингибирование СЛХЛ крови больных с непереносимостью аспирина и /или анальгина под действием салицилата натрия и анальгина [9]. Подобные результаты были получены и другими авторами при использовании в качестве модификатора СЛХЛ иных лекарственных средств, являющихся псевдоаллергенами, в частности новокаина [3].

Указанные различия в показателях СЛХЛ крови здоровых доноров и больных с непереносимостью тартразина открывают возможность применения хемилюминесцентного теста для диагностики повышенной чувствительности к данному красителю.

Мы склонны полагать, что наблюдаемые различия в показателях СЛХЛ крови у больных с непереносимостью псевдоаллергенов (НПВП, тартразина) и у здоровых доноров при предынкубации проб



Влияние тартразина на относительную светосумму СЛХЛ крови здоровых доноров (контрольная группа), больных с непереносимостью НПВП в сочетании с непереносимостью тартразина (группа 1) и больных с непереносимостью НПВП, толерантных к тартразину (группа 2)

Примечание: * – $p < 0,05$ относительно контрольной пробы; # – $p < 0,05$ относительно аналогичной точки доноров контрольной группы.

крови с соответствующими псевдоаллергенами связаны с различным содержанием и соотношением в плазме медиаторов, а также взаимодействием медиаторов с различными типами рецепторов на ПМЛ и, возможно, различной экспрессией этих рецепторов у здоровых и больных с непереносимостью НПВП, тартразина. В пользу этого предположения говорят ранее полученные В. И. Пыцким и соавт. [13] данные об участии гистаминового механизма в подавлении СЛХЛ крови больных с непереносимостью аспирина и/или анальгина при инкубации проб крови с салицилатом натрия или анальгином. По-видимому, медиаторы, воздействуя на фагоцитирующие ПМЛ, способны изменять активность ферментов окислительного метаболизма ПМЛ и, следовательно, модифицировать СЛХЛ крови. В частности, при изучении влияния гистамина, используемого в различных концентрациях, на окислительный метаболизм ПМЛ было выявлено, что гистамин дозозависимо изменяет активность НАДФН-оксидазной и миелопероксидазной ферментных систем ПМЛ [2].

Характер влияния тартразина на СЛХЛ крови больных с непереносимостью данного красителя и здоровых доноров является сходным с характером влияния НПВП на СЛХЛ крови больных с непереносимостью соответствующих препаратов и здоровых доноров, что указывает на наличие общих механизмов изменения СЛХЛ крови под влиянием данных агентов, в частности, участии одних и тех же медиаторов, изменяющих активность ферментов окислительного метаболизма ПМЛ крови.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Тартразин модифицирует СЛХЛ крови здоровых доноров и больных с повышенной чувствительностью к НПВП в сочетании или без такового с непереносимостью тартразина. У здоровых доноров при воздействии на кровь тартразина выявлялось две фазы в изменении интенсивности СЛХЛ крови: в первой фазе отсутствовали выраженные изменения СЛХЛ (в диапазоне от 0,4 до 100 мкМ); вторая фаза характеризовалась дозозависимым угнетением СЛХЛ. У больных с непереносимостью тартразина наблюдалось выраженное подавление интенсивности СЛХЛ, начиная с минимальной концентрации препарата. При всех используемых концентрациях красителя СЛХЛ крови больных с непереносимостью тартразина была достоверно ниже, чем у здоровых доноров.

2. Наличие достоверных различий в показателях СЛХЛ крови здоровых доноров и больных с непереносимостью тартразина открывает возможность применения хемилюминесцентного теста для диагностики повышенной чувствительности к данному красителю.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Проскурина Е. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–388.
2. Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский В. В. Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса пероксидного окисления нейтрофилов в крови доноров // Журнал «Вестник ВГУ». Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2008. – № 1. – С. 93–96.
3. Кузнецова Н. М., Филатов О. Ю., Степанова Е. В., Гюнтер Е. А. Диагностика аллергии на новокаин методами определения хемилюминесценции лейкоцитов и аллергической альтерации лейкоцитов // Тезисы Всероссийского конгресса «Новые направления в медицине». – Ленинск-Кузнецкий, 2000. – С. 77–78.
4. Новиков П. Д., Новикова Н. Д. Выявление IgE- и IgG-антител к пищевому красителю тартразину в сыворотке крови больных // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2006. – № 1. – С. 36–41.
5. Пыцкий В. И. и др. Аллергические заболевания. 3-е изд., перераб. и доп. – М.: издательство «Триада-Х», 1999. – 470 с.
6. Тумова Н. Д. Выявление аллергических реакций *in vitro* к пищевым красителям у детей с бронхиальной астмой и атопическим дерматитом // Педиатрия. – 2011. – Т. 90. № 3. – С. 38–43.
7. Тумова Н. Д. Аллергия на пищу и добавки // Неотложная помощь и профилактика аллергических заболеваний: Сб. научн. тр. – Витебск: ВГМУ, 2008. – С. 108–156.
8. Хаитов Р. М. и др. Клиническая аллергология: Рук-во для практических врачей. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с.
9. Чаусова С. В., Бондарева Г. П., Филатов О. Ю., Пыцкий В. И. Влияние ненаркотических анальгетиков на интенсивность люминолзависимой хемилюминесценции лейкоцитов периферической крови больных с непереносимостью этих лекарственных препаратов // В кн.: I Нац. конф. РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии». – М., 1997. – С. 441.
10. Dipalma J. R. Tartrazine sensitivity // Am. fam. physician. – 1990. – V. 42. № 5. – P. 1347–1350.
11. Metcalfe D. D., Sampson H. A., Simon R. A. Food allergy: adverse reactions to foods and food additives. 4th ed. Malden, MA: Blackwell Publishing. – 2008. – P. 310–370.
12. Pytsky V. I., Filatov O. Ju., Chausova S. V. In vitro diagnosis of pseudoallergic reaction to salicylate sodium and metamizole sodium (analgin). XVI Intern. Congr. allergol. and clin. immunol. cancun. – Mexico, 1997. – P. 46.
13. Pytsky V. I., Filatov O. Ju., Chausova S. V. Role of histamine in inhibition of stimulated luminol-dependent chemiluminescence of blood leucocytes induced by salicylate sodium or metamizole sodium (analgin) in aspirin or/and analgin sensitive patients // Eur. j. of clin. che. & clin. biochem. – 1997. – V. 35. № 9. – P. 94.
14. Wilson B. G., Bahna S. L. Adverse reactions to food additives // An. allergy asthma immunol. – 2005. – V. 95. № 6. – P. 499–507.
15. Worm M. Increased leukotriene production by food additives in patients with atopic dermatitis and proven food intolerance // Clin. exp. allergy. – 2001. – V. 31. № 2. – P. 265–273.

Поступила 23.06.2014