

## **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ «СКРЫТОЙ ПИЩЕВОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ»**

До начала 90-х годов прошлого века участие иммунной системы в патологических состояниях, вызываемых пищей, признавалось исключительно в виде немедленных, классических аллергических реакций [1]. Явление «скрытой пищевой непереносимости» (СПН) большинство врачей практически не замечало и не принимало во внимание, в связи с отсутствием общепринятого концепта, связывающего симптомы хронических заболеваний с пищевым воздействием на иммунную систему, а также – в связи с отсутствием надежных маркеров и лабораторных методов достаточной чувствительности и специфичности. Поскольку иммунные реакции, обусловленные «скрытой пищевой непереносимостью» протекают в крови, было естественно использовать, как материал для поиска маркёров непереносимости, именно кровь - одну из главных информационных систем организма, реагирующую на любое инородное вторжение.

### **► Клеточные тесты**

В начале 90-гг. в ЮАР был разработан один из первых диагностических тестов для выявления пищевых продуктов, влияющих на клеточные структуры крови - лейкоциты и тромбоциты. Тест получил название ALCAT (Antigen Leukocyte Cellular Antibody Test) [2-5]. Практически одновременно в Великобритании был разработан аналогичный клеточный тест под названием NuTron [6,7]. Ряд лабораторий в Европе предлагает этот тест под торговой маркой NOVO –test [8-10]. Все клеточные тесты являются по сути методом идентификации чужеродных протеинов путем регистрации изменений размеров клеток крови *in vitro*. Суть всех клеточных тестов состоит в регистрации качественных и количественных изменений белых клеток крови в ответ на контакт с антигенами пищевых продуктов. У пациента берут цельную кровь, которую обрабатывают и анализируют при помощи специального оборудования. После лизиса удаления эритроцитов, лейкоциты инкубируют с очищенным пищевым экстрактом, после чего производят измерение статистического распределения размеров клеток-маркеров. Сам процесс автоматизирован и контролируется компьютером, изменения в статистике распределения клеток-маркеров по размеру сравниваются с Гауссовым распределением, играющим роль референтного. Если данный экстракт вызывает существенное изменение морфологии лейкоцитов (изменение параметров статистического распределения клеток по размерам), в первую очередь, нейтрофилов, то считается, что пищевой продукт, из которого он получен, вызывает у индивидуума аномальную реакцию.

Абсолютная величина этой реакции, в выбранной шкале отсчетов, отождествляется с величиной иммунной реакции организма на данный экстракт продукта.

До разработки гораздо более информативных иммунологических тестов, ALCAT и NuTron (NOVO) были основными тестами на «скрытую пищевую непереносимость», используемыми во врачебной практике.

### ► Иммунологические тесты на основе иммуносорбентного ферментного анализа

В 1982г в США и Великобритании был разработан иммунологический тест, использующий в качестве маркера «скрытой пищевой непереносимости», циркулирующие в крови антитела (иммуноглобулины) группы IgG.

В настоящее время тест на IgG, реже на IgG4, является наиболее распространенным в мире видом теста на «скрытую пищевую непереносимость» [11-14], ибо реализуется на основе иммуносорбентного ферментного анализа ИФА, ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) [15], широко используемого в мировой медицинской практике и акцептированного как иммунологами, так и аллергологами в качестве наиболее надежного средства обнаружения присутствия чужеродных антигенов. Иммунологический метод диагностики основан на корреляции между регистрируемой в эксперименте концентрацией специфических пищевых антител - иммуноглобулинов класса IgG в образце сыворотки крови (serum) *in vitro* и величиной иммунной реакции к этому продукту. Измеряемая в процессе ИФА величина выбранного параметра-маркера, рассматривается как количественный показатель отклика иммунной системы на попадающие из системы пищеварения в кровь макрочастицы, недорасщепленного ферментной системой продукта.. В ИФА ELISA пищевые антигены фиксируются на поверхностях 96-луночной тест-панели. Для защиты нестабильных антигенов, микролуночки затем покрываются стабилизирующим полимерным слоем, который высушивается поверх пищевых антигенов. Измерение уровней специфических пищевых антител пациента зависит от их способности специфически связываться с пищевым антигеном. После соединения антитела с антигеном, плашки промываются для удаления других несвязанных антител и компонентов сыворотки. Затем пищевые антитела выявляются с помощью вторых антител, которые химически связаны с ферментом. Фермент в конце процесса вызывает окрашивание. Полученная интенсивность окрашивания является точным индикатором исходной концентрации пищевых антител в образце сыворотки пациента. Количество искомым антител определяется по содержанию окрашенного продукта реакции путём сканирования оптической плотности и сравнения с плотностью контрольной пробы.

Это позволяет лабораторным путем точно устанавливать количество антител к каждому пищевому продукту.

Методология ELISA достоверно (воспроизводимость 95-97%) позволяет выявлять различные антитела и антигены, имеющие клиническое значение. Спектр тестируемых антигенов может быть адаптирован для конкретной популяции или этноса, в соответствии с особенностями пищевого рациона.

### ► **Отличительные особенности BloodScan Test™**

В настоящее время принята и доказана концепция происхождения целого ряда заболеваний, связанная со «скрытой пищевой непереносимостью» (СПН). Патогенез возникновения и развития патологических реакций имеет связь с избыточной концентрацией антител IgG в крови. Стойкое повышение концентрации антител связано с регулярным приемом продуктов-антагонистов (продуктов, вызывающих СПН). Этот тип патологических реакций развивается по принципиально отличной от классической, связанной с IgE, схеме: - по схеме аллергических реакций замедленного типа [16], Естественно предположить, что подход к обработке данных и логика выводов по результатам ИФА на IgG, должны принципиально отличаться от принятой в классической аллергологии.

BloodScan Test™ также основан на иммуносорбентном ферментном анализе (ИФА ELISA, IgG), но его принципиальное отличие от аналогов заключается в совершенно новом концепте обработки и интерпретации результатов [17], основанном на многочисленных клинических исследованиях данных ИФА, характерных для различных типов «скрытой пищевой непереносимости». Запатентованный алгоритм селекции данных, получаемых в BloodScan Test™, позволяет практически безошибочно определять продукты-антагонисты, подлежащие исключению из персонального рациона, а результаты BloodScan Test™, позволяют создавать точные индивидуальные программы питания, применение которых приводит к разгрузке иммунной системы, быстрому повышению адаптационных возможностей организма и устранению причин ряда хронических заболеваний.

## Литература

1. J. Brostoff, S. J. Challacombe "Food Allergy and Intolerance"; Saunders 2002; ISBN: 0-7020-2038-9
2. Pasula, M. and Sandberg, D. H. A comparison of the ALCAT test for food reactions amongst two population sub-groups. //Presented at the 45th Annual Congress, Amer. Coll. Allergy and Immunol. 1988, Nov. 12-16. Los Angeles.
3. Fell P.J., Brostoff J., O'Donnell H.O. et al. ALCAT — «A New Test For Food Induced Problems in Medicine» // Annual Meeting of the American Academy of Otolaryngic Allergy.— 1988.— Vol. 2.— P. 29.
4. Fell P.J. Cellular Responses to Food in Irritable Bowel Syndrome. An Investigation of the ALCAT-test // J. Nut. Med.— 1991.— Vol. 2.— P. 143—149.
5. Pasula M.J. A Possible New Whole Blood Assay for Delayed Hypersensitivity Reactions // AMT Events Quarterle.— 1988.— Vol. 5.— P. 178—179.
6. Kucharzik, T.,Williams, IR. Neutrophil migration across the intestinal barrier. Pathobiology 2002;70(3):143-9
7. Lewis, SA et al. Modulation of epithelial permeability by extracellular macromolecules. Physiol Rev 1995 Jul;75(3):561-89
8. Mary Madeline Rogge, PhD, RNCS, FNPM, "The Case for an Immunologic Cause of Obesity";Biological Research For Nursing, Vol. 4, No. 1, 43-53 (2002)
9. Study Confirms: Your Hidden Food Allergies Are Making You Fat. Medical News Today, 07 Apr. 2009
10. Kingsley Doctor, Patrick andJan Stoakes; "The Nutron Diet", The Individual Diet Company, 1994. 1st Edition. Paperback. ISBN: The Individual Diet Company.
11. Marinkovich V " Specific IgG antibodies as markers of adverse reactions to foods. Monogr.Allergy; 32; 221- 225 ;1996
12. Atkinson W, SheldonT.A, Shaat N, Whorwell P.J. "Food Elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomized controlled trial". Gut. 2004 Oct.53 (10): 1459-64
13. Raymond M.Suen, M.T (ASCP) and Shalima Gordon, Bsc, ND; " The Clinical Relevance of IgG Food Allergy Testing Trough ELISA"; 2005, US BioTek Labs (USA); Report ;
14. Geoffrey Hardman BA; Dr.Gillian Hart BSc,PhD : "Dietary advice based on food-specific IgG results" ; York Nutritional Labs (UK); 2005 Oct.,Report;
15. Ekins, R.P. at all. Multi-analyte immunoassay. J. Pharm Biomed Anal. 1989, 7, 155-168
16. Воробьева Н.Л., Агафонов В.Е. и др, Патент РФ №2185178.
17. Rozenshteyn M. Rozenshteyn A. Volkov A.; «Method of Analysis, Detection and Correction of Food Intolerance in Humans», Patent Int. ImmunoHealth™, WO 2009/035529 A1, Priority 7/10/2007.