

# ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ХРОМСОДЕРЖАЩИХ АВТОЛИЗАТОВ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ

## ANTIGENIC PROPERTIES OF CHROMIUM ENRICHED BAKER'S YEAST AUTHOLYSATE

**И.В. Гмошинский\*, С.Н. Зорин, В.К. Мазо**  
**I.V. Gmoshinski\*, S.N. Zorin, V.K. Mazo**

ГУ НИИ питания РАМН, Москва  
Institute of Nutrition, RAMS, Moscow, Russia

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эссенциальные микроэлементы, хром, обогащенные дрожжи, автолизаты, антигены, иммуноферментный анализ, пищевая непереносимость

**KEYWORDS:** essential trace elements, chromium, enriched yeast, autholysates, antigens, ELISA, food intolerance

**РЕЗЮМЕ:** Антитела класса IgG к автолизатам обычных и обогащенных хромом пекарских дрожжей и к водорастворимым фракциям автолизатов были определены в сыворотке крови у 102 детей в возрасте от 4 месяцев до 7 лет, страдающих различными формами пищевой непереносимости. Помимо этого, в тех же сыворотках были измерены титры антител к 24 пищевым продуктам, включая молоко, мясо, овощи, фрукты и злаки. Полученные данные показали, что антитела к водорастворимым фракциям дрожжевых автолизатов (как с хромом, так и без него) встречаются крайне редко, то есть эти продукты обладают низкой сенсибилизирующей способностью. В отличие от этого, антитела к цельному необогащенному автолизату выявлены у 23,5% детей, а к его обогащенному хромом аналогу у 3%. По этому показателю цельный необогащенный автолизат мог быть охарактеризован как продукт со средней сенсибилизирующей способностью. Культивация дрожжей в присутствии соли хрома существенно снижала их антигенные свойства. Уровни антител к автолизату дрожжей высоко достоверно коррелировали с антителами к кукурузе, пшени и арахису. Высказывается предположение, что больным с непереносимостью данных продуктов следует также с осторожностью потреблять продукты и БАД к пище, содержащие дрожжевой автолизат в качестве источника микроэлементов, в частности, хрома.

**ABSTRACT:** IgG antibodies were measured against common and chromium enriched baker's yeast

autholysate "Vitasil" and their water soluble fractions in blood sera of 102 children aged from 4 months to 7 years suffering from different forms of food intolerance. Antibodies were determined also against 24 foods including milk, meat, vegetables, fruits and cereals. The data obtained showed that antibodies against water soluble (clarified) autholysate fractions (both with chromium and without it) were extremely rare and these preparations could be attributed as substances with weak sensitizing activity. Unlike this antibodies against crude "Vitasil" preparation were found in 24 children (23.5%) and against its chromium enriched analog in 3 children (3%). Therefore crude unenriched "Vitasil" in contrast to clarified one could be characterized as a product with moderate sensitizing activity. Antibody levels against chromium enriched crude "Vitasil" were significantly lower than to common one. Correlation coefficients between antibodies titers were high significant ( $P < 0.001$ ) for crude "Vitasil" on the one hand and antigens of peanut, millet and corn on the other hand. It means that patients with food intolerance of some nuts and cereals must warily consume yeast autholysate and food supplements containing it.

### Введение

При обогащении диетических (профилактических или лечебных) продуктов питания эссенциальными микроэлементами (ЭМ) имеются определенные основания отдавать предпочтение их органическим связанным формам, поскольку именно они, а не минеральные соли, по-видимому, в наибольшей степени соответствуют особенностям ферментативных систем организма, сложившимся в ходе эволюции. Одним из перспективных путей практического осуществления процессов биотрансформации неорга-

\* Адрес для переписки:  
Гмошинский Иван Всеволодович  
109240, Москва, Устьинский проезд д. 2/14, ГУ НИИ питания РАМН, Лаборатория физиологии и биохимии пищеварения.  
e-mail mazo@ion.ru

нических соединений ЭМ в органически связанные формы является получение биомассы пищевых дрожжей, обогащаемых селеном, железом, цинком, медью, хромом, марганцем и другими ЭМ в ходе культивации (Мазо и др., 2004а). Возможно также получение органических соединений эссенциальных переходных металлов путем их комплексования с автолизатами пищевых дрожжей по аналогии с получением хелатных комплексов эссенциальных переходных металлов с пептидами, выделенными из ферментативных гидролизатов белков молока и других пищевых белков (Мазо и др., 2004б). Дрожжи как таковые и их автолизаты обладают, однако, способностью проявлять аллергизирующие свойства, связанные, вероятно, в значительной мере, с наличием антигенных детерминант маннанов в составе клеточных стенок (Бланко и др., 1985). Автолиз дрожжевой биомассы и последующее удаление клеточных оболочек путём центрифугирования должны снижать антигенные свойства образующейся водорастворимой фракции дрожжей и существенно повышать биодоступность содержащегося дрожжевой клетки. Антигенность комплекса ЭМ с автолизатом дрожжей определяется молекулярными массами пептидов в его составе, и возможно химической природой ЭМ. В данной работе, во-первых, представлены результаты сравнительной количественной оценки антигенных свойств цельного автолизата пекарских дрожжей и его водорастворимой фракции (лишенной клеточных оболочек). Во-вторых, приведены данные, характеризующие антигенные свойства комплекса хрома с водорастворимой фракцией автолизата пекарских дрожжей и цельного автолизата пекарских дрожжей, обогащенных хромом в процессе культивирования.

### Материалы и методы исследования

В качестве исходного объекта исследования был использован цельный автолизат пекарских дрожжей «Витасил-С», предоставленный ООО «Эней-Вита» (Москва), который представлял собой легкий порошок коричневатого цвета, со свойственным дрожжам вкусом и запахом. При восстановлении в воде он образовывал мутную взвесь.

Водорастворимую фракцию автолизата пекарских дрожжей, обозначаемую в дальнейшем «Витасил-В», получали путем растворения в воде автолизата «Витасил-С», центрифугирования и лиофильного высушивания супернатанта. Высушенный образец «Витасил-В» — это порошок светло-коричневого цвета, специфического запаха, полностью растворимый в воде с образованием раствора коричневого цвета.

Комплекс водорастворимой фракции автолизата пекарских дрожжей с хромом «Витасил-ВХ» получали следующим образом: к 100 мл 5% водного раствора продукта «Витасил-В» добавляли 500 мл 10% раствора гексагидрата хлорида хрома (III) (х.ч.). Устанавливали pH = 7,1 в реакционной смеси путем добавления 1н раствора гидроксида натрия и вели реакцию при перемешивании 1 час при комнатной температуре. После этого полученную смесь фильтровали и фильтрат использовали в дальнейших

исследованиях.

Автолизат пекарских дрожжей, обогащенных хромом в ходе их культивации «Витасил-ХС», предоставленный ООО «Эней-Вита», имел тот же внешний вид и органолептические свойства, что и автолизат «Витасил-С».

Оценивали антигенные свойства всех четырёх исследуемых образцов. Для этой цели использовали образцы сыворотки крови 102 больных детей в возрасте от 4 месяцев до 7 лет, в их числе 42 девочки и 60 мальчиков. В обследованной группе преобладали такие формы пищевой непереносимости, как атопический дерматит, гастроинтестинальная аллергия, синдром непереносимости белков коровьего молока. Отмечались единичные случаи респираторной аллергии (аллергический бронхит, бронхиальная астма). Сыворотки крови были предоставлены КДЦ «Детское питание», являющимся подразделением ЗАО «Компания Нутритек» (руководитель д.м.н. Л.Г. Мамонова). В этом медицинском учреждении у всех больных детей брали по 1-2 мл крови из вены наощак в ходе предписанного врачом рутинного серологического обследования. В сыворотках крови определяли титры циркулирующих специфических IgG антител против антигенов четырех вышеперечисленных исследуемых автолизатов, а также против белков следующих пищевых продуктов: цельного коровьего молока, цельного козьего молока, куриного яйца (овальбумина), изолята белка сои, глютена пшеницы, глютена ржи, глютена ячменя, белка риса, гречихи, овса, пшеницы, кукурузы, картофеля, бананов, цветной капусты, арахиса, говядины, свинины, индейки, курицы, рыбы (трески), яблока, груши, цитрусовых (апельсина) (всего 24 антигена) методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа, согласно методике (Боровик и др., 1993). Для всех вышеперечисленных пищевых продуктов, а также для антигенов исследуемых четырёх образцов определяли средние величины титров специфических IgG антител и ранжировали антигены по величине среднего титра в порядке убывания. Для дополнительной оценки антигенности (потенциальной аллергенности) исследуемых продуктов нами определялись частоты встречаемости в сыворотках больных детей антител в титрах, превышающих минимальный диагностический уровень. Минимальные диагностические титры IgG антител для пищевых антигенов, используемые в работе КДЦ «Детское питание», представлены в работе (Боровик и др., 1998). Для того чтобы оценить возможную величину диагностического титра антигенов цельного автолизата «Витасил-С» и его водорастворимой фракции, нами были отобраны и проанализированы данные для 11 больных, у которых антитела в диагностически значимых титрах не были выявлены ни к одному из 24 пищевых антигенов. Установлено, что в сыворотках крови всех этих больных титры антител к антигенам автолизата «Витасил-С» и его водорастворимой фракции были относительно низкими и не превышали 500. Эта величина принята нами за минимальный диагностически значимый титр для данных антигенов, а также для антигенов автолизата, обогащенного хромом, и комплекса

водорастворимой фракции автолизата с хромом при последующем анализе.

При статистической обработке результатов использовали стандартный пакет программ MS Excel XP. Коэффициенты ранговой корреляции по Спирмену и показатели достоверности различия групп согласно непараметрическому критерию Вилкоксона рассчитывали с помощью пакета программ SPSS 11.5 для Windows.

### Результаты и обсуждение

Как следует из данных, представленных на рисунке 1, в сыворотке крови всех 102 обследованных детей практически отсутствовали антитела к водорастворимой фракции автолизата «Витасил-В» и комплексу этой фракции с хромом «Витасил-ВХ». К этим препаратам ни у одного из больных не были выявлены антитела в титре, превосходящем 1:100, что соответствует чувствительности применяемого метода. Вместе с тем, у ряда больных были выявлены антитела к автолизатам «Витасил-С» и «Витасил-ХС», содержащим клеточные стенки. К небогатому хромом автолизату «Витасил-С» антитела в титре выше 1:100 были выявлены у двадцати четырех детей (23,5%), в титре выше 1:500 у четырех детей (4%) и в титре выше 1:1000 у одного ребенка (1%). Для хромсодержащего аналога этого автолизата «Витасил-ХС» в титре 1:100 антитела выявлены у трех детей (3%) и выше 1:1000 – у одного ребенка (1%). Средняя величина титра антител к продуктам «Витасил-С» и «Витасил-ХС» составила, соответственно,  $86 \pm 24$  и  $20 \pm 11$  ( $M \pm m$ ) (см. Таблица 1). При попарном сравнении титров антител к двум указанным образцам согласно критерию Вилкоксона

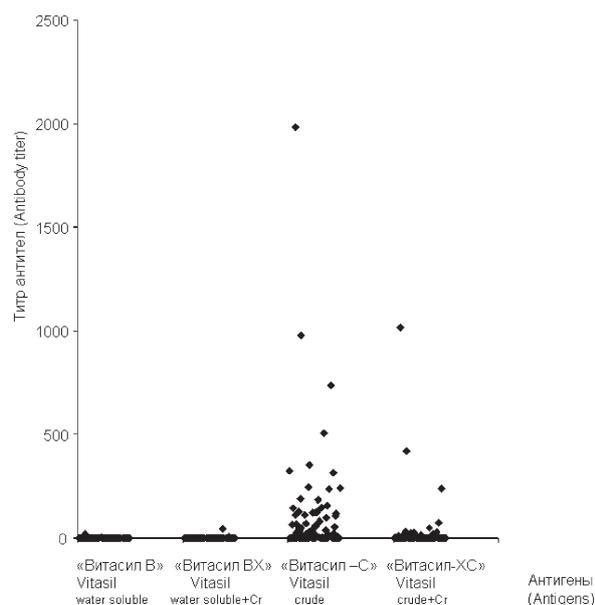


Рисунок 1. Индивидуальные значения титров антител к образцам контрольного и хромсодержащего «Витасила» у 102 больных детей. Ось абсцисс – тестируемые антигены, ось ординат – титр антител

различие величины иммунного ответа статистически высоко достоверно ( $P < 0,001$ ). Таким образом, если в случае водорастворимой фракции автолизата дрожжей, лишенной клеточных оболочек, не выявлено какого-либо влияния добавки хрома на антигенные свойства продукта, то в случае цельного образца автолизата, полученного из дрожжей, обогащенных хромом в ходе культивации, наблюдается отчетливое снижение антигенных свойств в результате такого обогащения.

В таблице 1 приведены средние, минимальные и максимальные величины титров антител и частоты выявления антител в диагностических титрах к антигенам 24 пищевых продуктов и образцам хромсодержащих и не обогащенных хромом автолизатов пекарских дрожжей в сыворотке крови 102 больных детей. В этой же таблице в скобках представлены соответствующие ранговые значения в порядке убывания. Видно, что антигены водорастворимой фракции дрожжевого автолизата «Витасил-В» и комплекса этой фракции с хромом принадлежат к числу антигенов с наименьшей сенсibilизирующей способностью (26-е – 28-е место среди 28 тестируемых антигенов как по показателю среднего титра, так и по распространенности антител в диагностических титрах). Образец «Витасил-ХС», представляющий собой цельный автолизат хромсодержащих дрожжей, также может быть отнесен к числу продуктов с низкой сенсibilизирующей способностью (25-е место по показателю среднего титра и 22-е по частоте выявления к нему антител в сыворотках крови больных детей). Вместе с тем, цельный автолизат дрожжей «Витасил-С» занимает по показателям среднего титра и распространенности антител в диагностических титрах 19-е и 15-е место, то есть, во всяком случае, по последнему из этих показателей может быть отнесен к числу продуктов со средней сенсibilизирующей способностью. Очевидно, что удаление фракции клеточных стенок из образца значительно снижает его антигенные свойства. Что же касается комплексов хрома с растворимой фракцией автолизата, то оно, во всяком случае, не усиливает сенсibilизирующих свойств образующегося комплекса. Обогащение цельного автолизата этим микроэлементом путем предварительного введения хрома в процессе культивации дрожжевой массы даже выраженным образом снижает способность цельного автолизата взаимодействовать с антителами в сыворотках крови больных детей. Выяснение причин такого снижения антигенности представляет самостоятельную задачу. Можно лишь предположить, что в ходе культивации дрожжей в присутствии солей хрома последние ингибируют синтез определенных антигенов клеточных стенок (возможно, полисахаридной или гликопротеидной природы).

Для того чтобы оценить возможные перекрестные реакции между антигенами автолизатов хромсодержащих и не содержащих хрома дрожжей и различными антигенами пищевых продуктов, были рассчитаны ранговые коэффициенты корреляции между титрами IgG антител к автолизатам дрожжей, с одной стороны, и к антигенам 24 пищевых продуктов – с другой.

Таблица 1. Средние ( $M \pm m$ ), минимальные и максимальные значения титров антител к антигенам необогащенного и хромосодержащего «Витасила» и 24 пищевых продуктов у 102 больных детей

Антигены	Диагностический титр, не менее	Средний титр ( $M \pm m$ )	Диапазон значений		% выявления антител в диагностическом титре
			Минимум	Максимум	
Банан	2000	2275 ± 233 (1)	0	15100	39,2 (4)
Коровье молоко	1500	1602 ± 171 (2)	0	9800	37,3 (5)
Куриный овальбумин	1800	1275 ± 181 (3)	0	10100	21,6 (7)
Овес	500	1028 ± 187 (4)	0	11500	55,9 (1)
Козье молоко	500	670 ± 98 (5)	0	6800	45,1 (2-3)
Ячмень	500	611 ± 105 (6)	0	9600	45,1 (2-3)
Рис	1100	623 ± 91 (7)	0	6800	12,7 (9-10)
Пшеница	1500	461 ± 135 (8)	0	13700	2,0 (20)
Говядина	1000	501 ± 54 (9)	0	3500	14,7 (8)
Кукуруза	1000	389 ± 42 (10)	0	2400	6,9 (13)
Цв. капуста	500	302 ± 33 (11)	0	1800	23,5 (6)
Арахис	1000	242 ± 60 (12)	0	5500	2,9 (16-19)
Гречиха	800	231 ± 46 (13)	0	3000	8,8 (11)
Пшено	1000	229 ± 29 (14)	0	1600	1,0 (21-25)
Картофель	800	215 ± 27 (15)	0	1000	7,8 (12)
Апельсин	1000	217 ± 25 (16)	0	1100	1,0 (21-25)
Рожь	500	189 ± 51 (17)	0	4900	12,7 (9-10)
Груша	700	131 ± 21 (18)	0	1000	5,9 (14)
<b>«Витасил-С»</b>	<b>500</b>	<b>86 ± 24* (19)</b>	<b>0</b>	<b>1980</b>	<b>3,9 (15)</b>
Индейка	1000	79 ± 34 (20)	0	3300	1,0 (21-25)
Рыба	1000	72 ± 23 (21)	0	2000	1,0 (21-25)
Соя	500	64 ± 25 (22)	0	1800	2,9 (16-19)
Свинина	500	71 ± 14 (23)	0	700	2,9 (16-19)
Курица	500	40 ± 15 (24)	0	1100	2,9 (16-19)
<b>«Витасил-ХС»</b>	<b>500</b>	<b>20 ± 11* (25)</b>	<b>0</b>	<b>1016</b>	<b>1,0 (21-25)</b>
Яблоко	1200	10 ± 4 (26)	0	200	0,0 (26-28)
<b>«Витасил-ВХ»</b>	<b>500</b>	<b>1 ± 0 (27)</b>	<b>0</b>	<b>44</b>	<b>0,0 (26-28)</b>
<b>«Витасил-В»</b>	<b>500</b>	<b>0 ± 0 (28)</b>	<b>0</b>	<b>22</b>	<b>0,0 (26-28)</b>

Примечание. Данные, отмеченные \*, различаются между собой достоверно,  $P < 0,001$ , тест Вилкоксона для попарных значений

Данные, приведенные в таблице 2, показывают, что титры антител к «Витасилу-ХС» и его не обогащенному хромом аналогу «Витасил-С» высоко достоверно коррелируют между собой ( $R = 0,556$ ;  $P < 0,001$ ). Это является косвенным указанием на то, что в антигенные структуры обоих автолизатов, распознаваемые антителами в сыворотках крови больных детей, непосредственно не включаются атомы хрома. В числе других пищевых продуктов относительно высокие коэффициенты корреляции (более 0,35;  $P < 0,001$ ) отмечаются для антител к антигенам пшена, арахиса и кукурузы, с одной стороны, и к антигенам не обогащенного хромом цельного автолизата – с другой. Все остальные достоверные коэффициенты корреляции отвечают слабой степени связи (коэффициент

корреляции менее 0,35; обычно в пределах 0,2-0,3) и могут объясняться наличием субпопуляции больных с тяжелой формой поливалентной сенсибилизации, демонстрирующих высокие уровни антител практически ко всем тестируемым пищевым продуктам. Что же касается антигенов пшена, арахиса и кукурузы (см. табл.2), то для них нельзя исключить наличие истинных перекрестных реакций с определенными антигенными структурами цельного автолизата дрожжей. Отсюда следует практический вывод, что больным с непереносимостью зерновых продуктов и орехов следует с определенной осторожностью употреблять в пищу БАД и продукты, содержащие цельные автолизаты пищевых дрожжей.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции по Спирмену (статистически достоверные, на уровне значимости  $P \leq 0,05$ ) между титрами антител к образцам «Витасил-С», «Витасил-ХС» и ряда пищевых белков у 102 больных детей

Антигены *	Коэффициенты корреляции	
	«Витасил-С»	«Витасил-ХС»
«Витасил-С»	–	<b>0,556</b>
«Витасил-ХС»	<b>0,556</b>	–
ОВА	0,318	**
Пшеница	0,325	**
Картофель	0,304	**
Банан	0,308	**
Арахис	<b>0,480</b>	0,195
Цв. капуста	0,249	**
Индейка	0,320	**
Кукуруза	<b>0,384</b>	**
Рыба	0,284	0,222
Апельсин	0,297	**
Курица	0,253	0,207
Пшено	<b>0,412</b>	0,204
Рожь	0,285	**

Примечания:

\* Для антигенов коровьего и козьего молока, сои, ячменя, гречихи, риса, овса, говядины, свинины, яблок, груш достоверная корреляция с антителами к «Витасилу С и ХС» отсутствует.

\*\* Коэффициент корреляции недостоверен ( $P > 0,05$ ).

## Литература

- Боровик Т.Э., Гмошинский И.В., Рославцева Е.А., Ладодо К.С. Макарова С.Г. Антитела к белкам пищевых продуктов у детей, страдающих целиакией и пищевой аллергией // Педиатрия. 1993. № 5. С.42-46.
- Мазо В.К., Гмошинский И.В., Егорова Е.А., Ширина Л.И. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов // Клиническая диетология. 2004а. Т.1(3). С.3-14.
- Мазо В.К., Зорин С.Н., Гмошинский И.В., Зилова И.С., Шатров Г.Н. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов. Сообщение 2: Комплексы меди, хрома и марганца с ферментативными гидролизатами сывороточных белков коровьего молока // Вопросы детской диетологии. 2004б. Т.2(3). С.9-11.
- Бланко Ф.Ф., Дерябин В.В., Пименов А.А., Бовина Е.В. Выделение, структура и биологическое действие дрожжевых маннанов // Антибиотики и медицинская био-технология. 1985. Т.32(12). С.925-937.
- Боровик Т.Э., Гмошинский И.В., Рославцева Е.А., Зорин С.Н., Сирота А.В., Мамонова Л.Г., Ладодо К.С., Яценко С.В. Иммунохимические методы в диагностике и обосновании элиминационной диетотерапии пищевой непереносимости у детей // Педиатрия. 1998. №5. С.50-56.

